# Eine autoradiographische Methode zur quantitativen Bestimmung von $^{90}Sr$ in Milch und Milcherzeugnissen

John Leslie

1962

Aus dem Institut für Nahrungsmittelkunde der
Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Professor Dr. L. Kotter

# EINE AUTORADIOGRAPHISCHE METHODE ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG VON $^{90}Sr$ IN MILCH- UND MILCHERZEUGNISSEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

von

John Leslie

aus

Leipzig

München 1962

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. K. Ullrich

Referent: Prof. Dr. L. Kotter

Tag der Promotion: 27. Februar 1962

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

UNI-Druck, München 13, Amalienstraße 85

Meiner Schwester gewidmet

# INHALTSVERZEICHNIS


| | | Seite |
|---|---|---|
| A. | Einleitung | 1 |
| B. | Grundsätzliches zur radioaktiven Strahlung und zur Autoradiographie | 2 |
| | I. Radioaktive Strahlung | 3 |
| | 1. Strahlenarten | 3 |
| | 2. Radionuklide | 4 |
| | a) Allgemeines über Halbwertszeit, Energie und MZK | 4 |
| | b) Strontium -90 | 4 |
| | c) Strontium -89 | 5 |
| | d) Barium - 140 und Radium - 226 | 6 |
| | e) Seltene Erden | 6 |
| | f) Caesium - 137 | 6 |
| | g) Jod - 131 | 7 |
| | II. Autoradiographie | 8 |
| | 1. Prinzipielle Unterschiede zwischen den autoradiographischen Verfahren | 8 |
| | a) Kontaktmethode | 8 |
| | b) "Coating"- und "Stripping"-Verfahren | 8 |
| | c) Kernphysikalische Platten | 9 |
| | 2. Faktoren, welche die Schwärzung photographischer Emulsionen beeinflussen | 9 |
| | a) Allgemeines | 9 |
| | b) Strahlungsenergie | 10 |
| | c) Absorption | 11 |
| | d) Selbstabsorption | 12 |
| | e) Rückstreuung | 12 |
| | 3. Filmmaterial | 12 |
| | 4. Auswertungsgeräte | 13 |
| | 5. Kontrastverstärkung | 14 |

Seite

C. Anwendung der Autoradiographie zur Messung radioaktiver Kontamination 15

I. Qualitativ / semiquantitativ 15

II. Quantitativ 15

D. Radiochemische Aufarbeitung von Milch und Milchprodukten für die Bestimmung von $^{90}Sr$ 16

I. Veraschung 16

II. Trägerzusatz 16

III. Anreicherung 17

IV. Analysen 17
1. Konservative Methoden 17
2. Ionenaustausch und Papierchromatographie 19

E. Eigene Versuche 20

I. Methodischer Teil 20
1. Analysen 20
a) Trägermenge 20
b) Aschegewinnung 20
c) Analysengang 21
2. Schichtdicke der Proben 22
3. Streubreite 24
4. Eichpräparate 24
5. Filmsorten 26
6. Belichten, Entwickeln und Fixieren der Filme 27
7. Photometrische Auswertung 27
8. Schwärzungskurven 28
9. Ermittlung der Radioaktivität der Proben aus den Schwärzungswerten 29

II. Autoradiographisch ermittelte Aktivitäten 29

F. Diskussion 33

G. Zusammenfassung 36

H. Literaturverzeichnis 37

Lebenslauf 43

# A. EINLEITUNG

Die Autoradiographie wird schon längere Zeit zur Untersuchung von Gewebsschnitten, die radioaktive Substanzen enthalten, verwendet. Gewöhnlich handelt es sich dabei um Stoffwechselstudien im pflanzlichen und tierischen Organismus. Die Autoradiographie soll dabei in erster Linie dazu dienen, Verteilung und Lokalisation applizierter Radioaktivität im histologischen Präparat aufzuzeigen.

Man begnügte sich dabei meist mit qualitativen Aussagen, ging also nicht näher auf die Messung des Schwärzungsgrades an verschiedenen Punkten der photographischen Schicht ein.

Mir wurde nun die Aufgabe gestellt, ungeachtet der bereits existierenden Verfahren zur Messung der radioaktiven Kontamination von Lebensmitteln zu prüfen, inwieweit sich die Autoradiographie auf dem Lebensmittelsektor für quantitative Messungen verwenden läßt, wobei vorerst lediglich Milch besonders gewürdigt werden sollte.

## B. GRUNDSÄTZLICHES ZUR RADIOAKTIVEN STRAHLUNG UND ZUR AUTORADIOGRAPHIE

Durch radioaktive Strahlen werden photographische Emulsionen ähnlich wie durch Lichtstrahlen geschwärzt. Durch elektrischen Ladungsausgleich entstehen in der photographischen Emulsion Silberkeime, das sog. "latente Bild". Bei der Entwicklung bilden sich um diese Keime größere Schwärzungszentren, die unter dem Mikroskop als Silbergranula sichtbar werden. Da auch bei unbelichteten Platten und Filmen schwärzende Faktoren auf die photographische Schicht einwirken, muß immer mit einem gewissen "Untergrund" oder "Schleier" gerechnet werden. Die Schleier werden durch Strahlen hervorgerufen, die erstens aus der Gelatineschicht selbst stammen, zweitens aus der Umgebung eindringen ("Umgebungsstrahlung") und schließlich kosmische Strahlen sind. Die Schleierkornbildung ist auch bei der Autoradiographie zu respektieren. Nach Boyd (4) sind bei den neueren Filmen und Platten die Schwankungen in der Schleierkornbildung innerhalb eines Paketes gering; nach Angerer und Joos (2) sollen aber von Platte zu Platte und von Film zu Film selbst innerhalb eines Paketes doch beträchtliche Unterschiede bestehen. Außerdem ändert sich nach den zuletzt genannten Autoren auch die Empfindlichkeit der Schicht in der Nähe des Film- bzw. Plattenrandes, so daß Proben und Eichpräparate stets auf engem Raum verglichen werden sollten, also nicht nur auf einem einzigen Film, sondern auch auf einem Film, dessen Größe die von den Präparaten bedeckte Fläche übersteigt, damit ein Randstreifen von etwa 3 cm frei bleibt.

Die radioaktive Strahlung ist im allgemeinen viel energiereicher als die des optisch sichtbaren Bereichs einschließlich der Ultraviolett- und Infrarotstrahlung. Mit den Röntgenstrahlen hat sie gegenüber den genannten Strahlen gemeinsam, daß die Schwärzungskurve nicht geschwungen, sondern geradlinig verläuft (17). Auf diese Beziehungen wird an anderer Stelle noch eingegangen.

# I. Radioaktive Strahlung

## 1. Strahlenarten

Als schwärzende Strahlen kommen in erster Linie ß-Strahlen in Frage, bei einigen Isotopen auch $\alpha$-Strahlen und $\gamma$-Strahlen. Da letztere in den Bereich der harten Röntgenstrahlen gehören, also keine Korpuskularstrahlen darstellen wie die $\alpha$- und ß-Strahlen, erzeugen sie nach Franke und Heintze (15) kontrastarme Bilder. Jedoch kann man ihre Wirkung durch Verwendung von Schwermetallfolien stärker zur Geltung bringen, da sich dann Sekundärelektronen bilden, die nun ihrerseits die photographische Schicht schwärzen. Man benutzt dieses Prinzip in den Röntgenfilmplaketten, die als Dosimeter zum Schutz des in Isotopenlaboratorien arbeitenden Personals getragen werden. Sie bestehen aus einem folienlosen und einem folientragenden Teil. Ersterer dient zur Messung der anfallenden $\alpha$- und ß-Strahlung, letzterer läßt indirekt die $\gamma$-Strahlung erfassen und zwar über die Einwirkung der aus der Metallfolie herausgelösten Sekundärelektronen auf die Filmemulsion.

Langendorff und Wachsmann (24) beschreiben ein System von Blei- und Kupferfiltern, die in ihrer Gesamtheit $\alpha$, ß und $\gamma$-Strahlen sowie verschiedene Strahlungsenergien unterscheiden lassen. Durch Einführung eines "Härtefaktors" kompensieren sie die unterschiedliche Schwärzung für verschiedene $\gamma$-Energien und können so die Strahlungsdosis in ihrer Gesamtheit annähernd erfassen.

Wie bereits erwähnt, verläuft auch bei $\gamma$-Strahlen die Schwärzungskurve linear, da nach Arens, Eggert und Heisenberg (3) die absorbierte Energie der auffallenden proportional ist und nur von der Empfindlichkeitskonstanten der Schicht mitbestimmt wird, die ihrerseits von der Korngröße abhängt (d.h. je grobkörniger der Film, desto höher seine Empfindlichkeit und umgekehrt). Allerdings gilt dies nur im Bereich geringer Schwärzungen, worauf auch bereits Friedrich und Koch (16) hingewiesen haben, nach deren Angaben die Schwärzungskurve nur bis zum kritischen Schwärzungsbereich S = 0,6 - 0,8 linear verläuft. Bei der heutigen Vervollkommnung des Film- und Plattenmaterials dürften diese Zahlen aber überholt sein; nach Meurers (29) liegt der kritische Wert bei S = 1.

## 2. Radionuklide

### a) Allgemeines über Halbwertszeit, Energie und MZK

Jedes Isotop verliert innerhalb einer ihm eigentümlichen "Halbwertszeit" die Hälfte seiner Radioaktivität. Diese Halbwertszeit wird auch als "physikalische Halbwertszeit" bezeichnet. Von "biologischer Halbwertszeit" wird gesprochen, wenn die Verweildauer einer Substanz im menschlichen oder tierischen Körper angegeben werden soll.

Ferner kommt jedem Isotop, unabhängig von seiner Radioaktivität, die mit der Intensität der Lichtstrahlung vergleichbar ist, eine bestimmte Strahlungsenergie zu. Für die Korpuskularstrahlung bedeutet dies nichts anderes als die Geschwindigkeit, mit der sich die elektrisch geladenen Teilchen fortbewegen. Bei rascher Bewegung spricht man von energiereicher oder harter, bei langsamer Bewegung von energiearmer oder weicher Strahlung.

Für jedes Isotop wurde außerdem unter Berücksichtigung der verschiedenen Faktoren (Resorbierbarkeit im Körper, Speicherung, physikalische und biologische Halbwertszeit usw.) die ihm zukommende maximal zulässige Konzentration (MZK; auf 1 Liter Wasser bezogen) festgesetzt. Bemerkenswert ist, daß zwar eine längere physikalische Halbwertszeit die Gefährlichkeit eines Radionuklids für den menschlichen Körper erhöht, daß aber bei extrem hohen Halbwertszeiten infolge der niedrigen Zerfallsrate die Bedenklichkeit geringer ist.

### b) Strontium - 90

$^{90}Sr$ ist ein regelmäßiger Bestandteil des Fallouts. Große Häufigkeitsrate, relativ lange physikalische und biologische Halbwertszeit, Speicherung im Knochen von Mensch und Tier sowie chemische Verwandtschaft zum Calcium machen Radiostrontium zum weitaus gefährlichsten Produkt der Kernspaltungen. $^{90}Sr$ und die beim Zerfall entstehende Tochtersubstanz, das $^{90}Y$, sind reine ß-Strahler. Während $^{90}Sr$ eine physikalische Halbwertszeit von 28 Jahren besitzt, beträgt sie für $^{90}Y$ nur 65 Stunden. Auch in der Strahlungsenergie bestehen wesentliche Unterschiede. Während die maximale Energie des $^{90}Sr$ 0,54 MeV beträgt, hat $^{90}Y$ eine solche von 2,27 MeV und zählt damit zu den härtesten ß-Strahlern überhaupt. Zwischen beiden besteht ein radioaktives Gleichgewicht, das sich nach chemischer Abtrennung des Yttriums innerhalb von ca. 14 Tagen erneut einstellt.

Der Magen-Darmtrakt resorbiert mit der Nahrung aufgenommenes $^{90}Sr$ zu 30 - 70 % (33). Ein beträchtlicher Teil davon wird im Skelett gespeichert. Da $^{90}Sr$ im biologischen Material immer Begleitsubstanz des Calciums ist und sich auch im Stoffwechsel ähnlich verhält, setzt man die $^{90}Sr$-Aktivität einer Substanz vielfach in Beziehung zum Calciumgehalt. Die Aktivität 1 pC/g Ca wird als S.U. (Strontium Unit) bezeichnet. Die biologische Halbwertszeit des $^{90}Sr$ wird mit 7 1/2 bis 11 Jahren (21, 40) angegeben. Selbst bei relativ geringer Eindringtiefe der emittierten ß-Strahlen stellt im Knochen inkorporiertes $^{90}Sr$ infolge seiner unmittelbaren Nachbarschaft zum erytropoetischen System eine große Gefahr dar.

Der Milch kommt bezüglich des $^{90}Sr$ insofern erhöhte Bedeutung zu, als sie unter den tierischen Produkten außer Knochenmehl den höchsten Gehalt an Radiostrontium besitzt (26). Letzterer schwankt zeitlich und regional innerhalb weiter Grenzen und stets in deutlicher Abhängigkeit zur Radioaktivität in den Niederschlägen. Nach Berichten des Bundesministeriums für Atomkernenergie und Wasserwirtschaft (6) betrug die $^{90}Sr$-Aktivität 1959 in Kiel 3,5 - 20,1 pC/kg Milch, 1960 in Jülich 4,5 - 8,1 pC/l Milch und im gleichen Jahr in Baden-Württemberg 10,7 - 26,9 pC/kg und in Kempten (Allgäu) 8,1 - 18,5 pC/kg Milch.

Vom Strontium der Milch gehen bei der Verarbeitung kontaminierter Milch nur 2 % des $^{90}Sr$ in den Rahm über, 98 % verbleiben in der Magermilch (35), deren $^{90}Sr$-Aktivität sich demnach gegenüber dem Ausgangsprodukt etwas erhöht. Fällt man das Eiweiß über eine Säuregerinnung aus, so enthält dieses 5 % des Strontiums, 95 % bleiben in der Molke (11, 35, 21, 21a).

c) Strontium - 89

Chemisch nicht von $^{90}Sr$ zu trennen ist $^{89}Sr$, das bei einer Halbwertszeit von 51 Tagen besonders im Anschluß an Atombombenexplosionen in größerem Umfang anfällt. $^{89}Sr$ ist ein reiner, verhältnismäßig harter ß-Strahler ($E_{max}$ = 1,46 MeV). Infolge seiner Kurzlebigkeit verschwindet es aber bald aus dem Fallout.

d) Barium-140 und Radium 226

Neben Strontium enthält die Erdalkalifraktion auch Radium und radioaktives Barium in Form des $^{140}Ba$, das neben ß-Strahlen ($E_{max}$ = 1,02 und 0,48 MeV) auch noch eine $\gamma$-Strahlung ($E_{max}$ = 0,54 und 0,16 MeV) emittiert. Die physikalische Halbwertszeit beträgt 12,8 Tage, weshalb es auch nur unmittelbar im Anschluß an eine Kernspaltung im Fallout anwesend ist, dann aber berücksichtigt werden muß, weil es sich bezüglich Resorption, Speicherung und Ausscheidung ähnlich verhält wie Strontium (33).

Es besitzt wie $^{90}Sr$ eine radioaktive Tochtersubstanz, das $^{140}La$, das gleich dem vorher erwähnten Yttrium zur Gruppe der seltenen Erden gehört. Radium stellt im Gegensatz zu den Radionukliden Strontium und Barium einen weitverbreiteten, natürlichen Strahler dar, mit dessen Anwesenheit daher in manchen Gegenden auch in der Milch gerechnet werden muß. Es wird wie Strontium im Knochen gespeichert und steht diesem an Gefährlichkeit für die menschliche Gesundheit kaum nach.

e) Seltene Erden

Gegenüber den Radionukliden der Erdalkalifraktion spielen die dem Fallout entstammenden, selbständig auftretenden Seltenen Erden eine geringe Rolle, da sie nur kurz im Organismus verweilen und meist auch noch kurze physikalische Halbwertszeit besitzen ($^{144}Ce$ hätte zwar eine Halbwertszeit von 285 Tagen, wird aber rasch ausgeschieden).

Lebensmittelhygienisch sind die Seltenen Erden mehr deshalb von Bedeutung, weil sie bei der chemischen Analyse zum Teil mit dem Strontium gefällt werden und dann hohe Strontiumaktivitäten vorgetäuscht werden können.

f) Caesium - 137

Unter den Nukliden der Alkalifraktion interessiert nur das langlebige $^{137}Cs$ (Halbwertszeit 30 Jahre), dessen ß-Energie nur wenig von der des $^{90}Sr$ abweicht ($E_{max}$ = 0,52 MeV), das aber zusätzlich noch eine $\gamma$-erzeugende Tochtersubstanz, das $Ba^{137m}$ ($E_{max}$ = 0,66 MeV) bildet.

In chemischer und physiologischer Hinsicht verhält sich $^{137}Cs$ ähnlich wie Kalium, als dessen Begleiter es zumeist nur in Spuren auftritt. Da Kalium stets einen natürlichen Strahler, das $^{40}K$, enthält, ist das Caesium sorgfältig von Kaliumverunreinigungen zu befreien. Analog zu $^{90}Sr$ und Calcium

wird die $^{137}Cs$-Aktivität wegen der nahen chemischen Verwandtschaft zu Kalium oft auf 1 g Kalium bezogen.

Biologisch betrachtet, erreicht $^{137}Cs$ nicht die Gefährlichkeit des $^{90}Sr$, da es schneller ausgeschieden und nicht gespeichert wird. Es muß aber trotzdem beachtet werden, weil es im Fallout in großen Mengen enthalten ist und sich im Stoffwechsel ähnlich verhält wie Kalium, also im Körper vor allem intrazellulär anzutreffen ist. Die biologische Halbwertszeit von $^{137}Cs$ beträgt im menschlichen Organismus 110 - 140 Tage (23), die angegebenen Werte schwanken allerdings beträchtlich. Nach Morgan und Ford (31) beträgt die Halbwertszeit für Lungengewebe 120 Tage, für Muskulatur 17 Tage. Larson (25) berichtet von 200 Tagen. Zwischen dem mit der Nahrung aufgenommenen $^{137}Cs$ und dem in den Organen befindlichen stellt sich rasch ein Gleichgewichtszustand ein. Die höchsten Konzentrationen finden sich in der quergestreiften Muskulatur.

Vor allem infolge der hohen Häufigkeitsrate von $^{137}Cs$ im Fallout und der leichten Resorbierbarkeit (33) übertrifft die durch $^{137}Cs$ bedingte Radioaktivität der Milch die des $^{90}Sr$ um ein Mehrfaches. 1960 wurden laut Bericht des Bundesministeriums für Atomkernenergie und Wasserwirtschaft (6) in Lindau (Meßstelle Freiburg/Breisgau) in der Milch eine Aktivität von 23 - 71 pC $^{137}Cs$/g K gemessen, die $^{90}Sr$-Aktivität betrug im gleichen Zeitraum 6,7 - 11,9 pC/g Ca. Der $^{137}Cs$-Gehalt hat hier also den des $^{90}Sr$ um den Faktor 5 übertroffen. Bei amerikanischen Untersuchungen war dieser Faktor beinahe doppelt so hoch (8). Die Tatsache, daß die Milch im Durchschnitt mehr Kalium als Calcium enthält, ist dabei noch nicht berücksichtigt. Rund 50 % des $^{137}Cs$-Gehaltes des menschlichen Körpers werden über die Milch inkorporiert (40).

g) Jod - 131

Unter den Anionen spielt nur $^{131}J$ eine wesentliche Rolle, weil es unmittelbar nach Atombombenexplosionen in großen Mengen im Fallout enthalten ist. Im Katastrophenfalle darf $^{131}J$ nicht vernachlässigt werden (39). Die von ihm emittierte Energie ist komplexer Natur, und seine Hauptkomponente bewegt sich in der gleichen Größenordnung wie die von $^{90}Sr$ und des ß-Anteils von $^{137}Cs$. Darüber hinaus weist $^{131}J$ auch noch eine komplexe $\gamma$-Strahlung auf. Im Fallout ist $^{131}J$ wegen seiner kurzen Halbwertszeit von 8 Tagen zurzeit zwar nur in geringen Konzentrationen vorhanden, da aber praktisch das gesamte aufgenommene Jod in der Schilddrüse gespeichert wird, kann es doch lokal schnell zu bedenklichen Anreicherungen kommen.

Dem Menschen wird $^{131}J$ vor allem über die Milch zugeführt. In Leeds betrug die $^{131}J$-Aktivität nach einem Reaktorunfall im Jahre 1957 pro pint Milch (1 pint = 560 ccm) maximal bis zu 12 nC (1 nC = $10^{-9}$ C) (7).

## II. Autoradiographie

### 1. Prinzipielle Unterschiede zwischen den autoradiographischen Verfahren

#### a) Kontaktmethode

Beim gebräuchlichsten autoradiographischen Verfahren, der Kontakt- oder Appositionsmethode, wird ein Röntgenfilm mit dem radioaktiven Präparat durch Zusammenpressen mittels einer Feder- oder Schraubvorrichtung in Kontakt gebracht. Die Dauer der Exposition hängt von der Empfindlichkeit sowie von der Art und der Aktivität der im Präparat vorhandenen Isotope ab. Um chemische Artefakte auszuschließen, kann zwischen Präparat und Film eine dünne Metallfolie gelegt werden. Der Film wird nach beendeter Exposition vom Präparat abgehoben, entwickelt und fixiert.

Wenn die Lokalisation der Schwärzungspunkte im Gewebsschnitt festzulegen war, führte dieses Verfahren allerdings wegen des verhältnismäßig großen Abstandes zwischen Präparat und photographischer Emulsionsschicht und wegen des schlechten Auflösungsvermögens der meisten Röntgenfilme vereinzelt zu Schwierigkeiten, so daß in gewissen Fällen die Entwicklung anderer Verfahren ratsam erschienen war.

#### b) "Coating"- und "Stripping"-Verfahren

Bei energiearmer Korpuskularstrahlung - z.B. Tritium ($H_3$) - muß die photographische Schicht möglichst eng am radioaktiven Präparat liegen, da die zwischenliegende Luftschicht stark absorbiert. Bei energiereicher Strahlung wirkt sich die Absorption weniger aus.

Bei der "Coating"-Methode wird das Präparat - gewöhnlich ein Gewebsschnitt - mit flüssiger (lichtempfindlicher) Emulsion überzogen. Ein Tropfen vorsichtig verflüssigter Filmemulsion wird hierzu auf den Gewebsschnitt gebracht, mit einem Pinsel möglichst gleichmäßig über die Oberfläche verteilt und so ein Überzug erzeugt, der nach dem Erkalten fest an dem Prä-

parat haftet. Es ist jedoch schwer, eine gleichmäßige Schichtdicke zu sichern.

Bei der "Stripping"-Methode entfällt dieser Mangel. Man verwendet eine Emulsionsschicht, die sich von ihrer Unterlage in Streifenform ablösen läßt. Die Streifen werden in Wasser gestreckt und dann gewissermaßen umhüllend auf Glasplatten aufgezogen, auf denen die Präparate fixiert worden sind.

Nach dem "Coating"- oder "Stripping"-Verfahren hergestellte Autoradiographien können nur dann durch Zählung der Silbergranula der belichteten Filmschicht ausgewertet werden, wenn das mit der Filmschicht zusammenbleibende Präparat entsprechend dünn gehalten wird. Bei Gewebsschnitten ist dies ohne weiteres möglich, nicht aber bei Präparaten in Pulverform. Bei diesen Verfahren werden vielfach Photoemulsionen verwendet, deren Empfindlichkeit zugunsten eines größeren Auflösungsvermögens unter derjenigen der handelsüblichen Röntgenfilme liegt, was bei gleicher Radioaktivität längere Exposition erforderlich macht. Das Auflösungsvermögen der Filmschicht, d.h. der kleinste Abstand, in dem zwei Punkte noch als voneinander getrennt abgebildet werden, spielt dort, wo die Oberflächenverteilung im Vordergrund steht, eine viel größere Rolle, als da, wo es mehr auf Durchschnittswerte ankommt.

### c) Kernphysikalische Platten

Der Vollständigkeit halber sei noch erwähnt, daß außer den beschriebenen Methoden auch die Bahnspurenzählung auf kernphysikalischen Platten herangezogen werden kann. Während $\alpha$-Bahnspuren geradlinig verlaufen, sind die Bahnspuren von ß-Teilchen sehr unregelmäßig (4), was ihre Auszählung sehr erschwert.

## 2. Faktoren, welche die Schwärzung photographischer Emulsionen beeinflussen

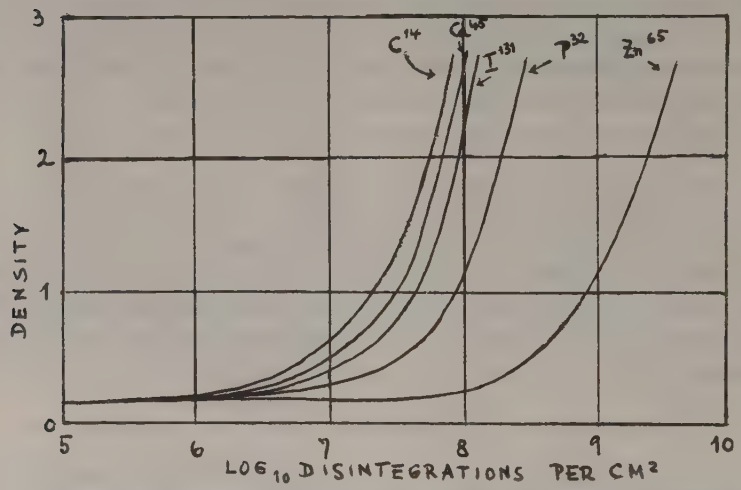
### a) Allgemeines

Das Ergebnis autoradiographischer Messung wird u.a. von folgenden Faktoren beeinflußt: Empfindlichkeit des Film- bzw. Plattenmaterials, Selbstabsorption der Strahlung im Präparat, Abhängigkeit der photographischen Schicht von Strahlenart und -qualität, Wahl des Standardpräparates, Expositionszeit,

Bedingungen während Exposition, Entwicklung und Fixierung der Filme (Platten), Wahl der günstigsten Auswertungsmethode.

b) Strahlenenergie

Die meisten der oben angeführten Schwärzungsfaktoren sind durch die Versuchsanordnung zu beeinflussen. Die Abhängigkeit der Schwärzung von der Strahlungsenergie ist jedoch ein präparatgebundener Begleitfaktor, der sich besonders beim Auftreten von Strahlern verschiedener Energie auswirkt: weiche Strahler schwärzen die Emulsion stärker als harte (Boyd, 4)).




CHARACTERISTIC CURVES FOR NO-SCREEN X-RAY FILM EXPOSED TO A SERIES OF RADIOISOTOPES.

Fig. 1 (Aus Boyd, Autoradiography, S. 47)

Figur 1 zeigt die unterschiedliche Schwärzung bei gleicher Radioaktivität, aber verschiedenen Strahlungsenergien im Falle von $^{45}Ca$ ($E_{\beta\ max.}$ = 0,26 MeV), $^{14}C$ (0,14 MeV), $^{131}J$ (0,6 MeV), $^{32}P$ (1,71 MeV) und $^{65}Zn$ ($E_{\beta^+}$ = 1,11 MeV). (Der Übersichtlichkeit halber sind als Abszissenwerte anstatt der Zahl der Zerfälle pro $cm^2$ Filmoberfläche deren Logarithmen aufgetragen; die Kurven verlaufen deshalb nicht geradlinig).

Wenn Isotopengemische vorliegen, überlagern sich die Kurven, so daß Aussagen bezüglich eines einzelnen Isotopes verhindert sind. Das gleiche trifft auch für Radionuklide mit einer Tochtersubstanz zu, jedoch existiert bei diesen die Möglichkeit, zum Vergleich ein Standardpräparat heranzuziehen und damit eine direkte Bestimmung der durch die Muttersubstanz hervorgerufenen Schwärzung zu umgehen.

### c) Absorption

Bei chemisch nicht trennbaren Isotopengemischen besteht die Möglichkeit, durch Absorption in Aluminiumfolien die weichere Strahlung zurückzuhalten. Diese Methode bietet sich vor allem für die Trennung von $^{89}Sr$ und $^{90}Sr$ an.

Die $\alpha$-Strahlen besitzen stets geringe Reichweite, da ihre Masse ein Vielfaches derjenigen der Elektronen (ß-Strahlen) beträgt, die $\beta^+$-Strahlen verfügen infolge ihrer Masselosigkeit jedoch über besonders gutes Durchdringungsvermögen.

Unter Halbwertsschichtdicke versteht man die Schichtdicke eines Mediums, welche die Hälfte der Strahlung zurückhält.

In jedem Medium findet Absorption statt. Zum Zwecke der Vergleichsmöglichkeit gibt man deshalb an Stelle der Schichtdicke (in mm) meist das Gewicht (in mg) pro $cm^2$ Oberfläche an.

Auch photographische Emulsion und Emulsionsträger (Celluloid bzw. Glas) absorbieren Strahlung, so daß bei doppelschichtigen Filmen die Rückseite etwas weniger geschwärzt erscheint als die dem Präparat unmittelbar anliegende; $\alpha$- und weiche ß-Strahler vermögen auf der rückwärtigen Emulsionsschicht überhaupt keinen Schwärzungseffekt zu erzeugen.

d) Selbstabsorption

Bei der autoradiographischen Messung der ß-Strahlen ist die Selbstabsorption besonders zu beachten. Bei harter (energiereicher) kann sie vernachlässigt werden. Bei weicher Strahlung nimmt die Schwärzung jedoch bis zu einer gewissen Schichtdicke, der maximalen Reichweite, zu, bleibt darüber hinaus aber konstant, gleichgültig wie stark man die Schichtdicke wählt. Schon vor Erreichung dieses Grenzwertes flacht sich die Kurve allmählich ab, was besagt, daß Schwankungen in der Schichtdicke nur noch geringe Schwärzungsunterschiede hervorrufen. Die Selbstabsorption kann theoretisch berechnet oder durch Verwendung bereits existierender Tabellen ermittelt werden.

e) Rückstreuung

Neben der Selbstabsorption spielt auch die Rückstreuung eine - wenn auch geringere - Rolle. Ein Teil der Rückstreuung erfolgt im radioaktiven Präparat und kann als zur Selbstabsorption gehörig aufgefaßt werden. Dagegen kommt dem durch die Unterlage des Präparates bedingten Teil der Rückstreuung eine selbständige Bedeutung im Sinne einer Vergrößerung der Gesamtstrahlung zu. Dieser wirkt der Selbstabsorption entgegen. Dabei sind neben der Energie auch Dicke und atomare Zusammensetzung der Unterlage von Bedeutung. Die Rückstreuung läßt sich reduzieren, wenn als Unterlage Material gewählt wird, das nur Atome niedriger Ordnungszahl enthält. Kunststoffe eignen sich hierzu sehr gut. Gleichmäßige Dicke der Unterlage sämtlicher gleichzeitig angesetzter Präparate ist ein weiteres Erfordernis (38).

3. Filmmaterial

Bei der Auswahl des Filmmaterials ist der Umstand in Betracht zu ziehen, daß sich nicht alle erwünschten Eigenschaften in einem Film vereinigen lassen. Gerade die hochempfindlichen Röntgenfilme besitzen infolge ihrer Grobkörnigkeit stets einen stärkeren Schleier und geringeres Auflösungsvermögen. Bei geringer Aktivität der Radionuklide muß dies aber in Kauf genommen werden. Dudley und Dobyns (13) verwendeten zu autoradiographischen Studien an Knochen den Eastman No-Screen-Röntgenfilm, Meurers (29) zur Bestimmung "heißer Körner" den Agfa-Sino Röntgenfilm.

Die Verwendung doppelschichtiger Röntgenfilme wäre bei weichen ß-Strahlern, wie $^{14}C$, $^{35}S$ oder $^{45}Ca$, sinnlos, da sich nur der Schleier verdoppeln, die Schwärzung aber nicht entsprechend verstärken würde; weiche ß-Strahlen können die 0,2 mm dicke Celluloidunterlage nicht durchdringen. Bei der Energie von der Größenordnung des $^{90}Sr$ liegen die Verhältnisse wesentlich anders: in diesem Fall kommt es im Emulsionsträger nur zu geringer Absorption. Nach Boyd (4) ist allerdings zu beachten, daß infolge des geringeren Auflösungsvermögens der rückwärtigen Schicht stärkere Randstrahlung auftritt und dadurch dort Schwärzungsflecke etwas verbreitert erscheinen. Bei der Photometrierung sollte also von der Erfassung der Randzone abgesehen werden. Boyd (4) hat auch ein Verfahren vorgeschlagen, um bei doppelschichtigen Filmen die rückwärtige Schicht von der Entwicklung auszuschließen.

4. Auswertungsgeräte

Die Auswertung von exponierten und entwickelten Filmen erfolgt durch Auszählen der Granula oder photometrische Messung der Schwärzung.

Für die Zählung der entwickelten Silberkörner pro Flächeneinheit der Emulsion wird ein Mikroskop, ein Fadenkreuzokular und eventuell noch eine besondere Transportvorrichtung zur Verschiebung des Gesichtsfeldes benötigt. Sie stellt aber in praxi ein umständliches Verfahren dar, wenn nicht eine automatische Granulazählungsvorrichtung zur Verfügung steht, wie sie von Dudley und Pelc (14) entwickelt worden ist. Nach Harbers (18) empfiehlt sich die Granulazählung vor allem für ganz geringe Schwärzungen, die photometrisch nicht mehr zu erfassen sind.

Als Photometer wurden einerseits Modelle mit einer Lochblende verwendet, welche die Gesamtschwärzung einer Fläche automatisch integrieren, andererseits sogenannte Mikrophotometer, bei denen die Integration rechnerisch erfolgt. Bei letzteren sorgt ein Spalt von verstellbarer Weite dafür, daß von der Gesamtfläche jeweils nur ein Teil abgetastet wird. Der dargestellte Teil wird optisch vergrößert an dem Spalt vorbeigeführt und auf eine Selenzelle projiziert, deren Stromschwankungen dann - nach Verstärkung durch einen Photovervielfacher - mittels Schreibfeder auf eine Papierrolle übertragen werden.

Der Vorteil des Photometers mit Lochblende gegenüber dem Mikrophotometer liegt darin, daß auf einer Skala einfacher abgelesen werden kann, vorausgesetzt, daß der Schwärzungsfleck kreisförmig und die dazugehörige Blenden-

größe mindestens 1 mm kleiner ist. Meurers (28) verwendete bei seinen Arbeiten ein derartiges Photometer (nach Dr. Lange, Berlin, Lochblendendurchmesser 2,26 mm). Ungenauigkeiten treten vor allem dann leicht auf, wenn die Lochblende nicht genau auf den Schwärzungsfleck zentriert wird.

Bei Verwendung des Mikrophotometers ist diese Fehlerquelle ausgeschlossen. Man kann den Meßvorgang stets kontrollieren. Deshalb lohnt sich auch der Mehraufwand, der mit der Auswertung der Kurven verbunden ist. Als Form des Schwärzungsfleckes wählt man hier, um etwaige Inhomogenitäten der Schwärzung aufzudecken, besser ein längliches Rechteck. Auf diese Weise gelingt es bei einmaligem Durchfahren vom Spalt, ein maximales Flächenstück abzutasten. Nur bei sehr starken Abweichungen ist ein mehrfaches Abtasten in verschiedenen Richtungen erforderlich. Das Instrument bestimmt die Schwärzung S als $\log_{10} i_o/i$, wobei $i_o$ die Intensität des durch den Schleier und i die Intensität des durch den Schwärzungsfleck hindurchgehenden Lichtes ist (12). Der Quotient der entsprechenden Galvanometerausschläge $u_o/u$ kann durch den Ausdruck $i_o/i$ ersetzt werden, so daß sich die Schwärzung als $S = \log_{10} u_o/u$ berechnet. Nach Denisoff (12) nimmt die Meßgenauigkeit bei Schwärzungen von $S \geq 1$ ab, da sich der Galvanometerausschlag (dessen Nullpunkt bei absoluter Lichtundurchlässigkeit liegt) dann als zu gering erweist. Als untere Begrenzung der Meßgenauigkeit gibt Meurers (29) bei dem von ihm verwendeten Photometer eine Schwärzung von S = 0,01 an.

### 5. Kontrastverstärkung

Bei schwachen lichtoptischen Aufnahmen - die Schwärzungskurve verläuft dann stets geschwungen - besteht die Möglichkeit, durch eine Zusatzbelichtung vor der Entwicklung des Filmes oder der Platte eine Kontrastverstärkung zu erzielen; belichtete Stellen werden dadurch aus dem "Durchhang" in den Steilbereich der Kurve gehoben. Bei der Einwirkung von radioaktiver Strahlung wird dies gegenstandslos, da die Schwärzungskurve geradlinig verläuft. Ein "Schwellenwert" existiert hier nicht (17).

Angerer und Joos (2) haben verschiedene Kontrastverstärkungsmethoden besprochen, die entweder auf chemischen Zusätzen zum Film- bzw. Plattenentwickler oder auf optischen Verfahren beruhen, welche erst nach erfolgtem Entwickeln und Kopieren angewandt werden.

## C. ANWENDUNG DER AUTORADIOGRAPHIE ZUR MESSUNG RADIOAKTIVER KONTAMINATION

### I. Qualitativ / semiquantitativ

Während die Autoradiographie früher in der Histologie breitere Anwendung gefunden hatte, wurde sie in letzterer Zeit auch für Messungen des radioaktiven Fallouts aus Kernexplosionen verwendet. Schedling und Müller (36) sowie Herbst (19) fingen die Staubteilchen der Luft auf Filtern bzw. Folien auf. Auch gelegentlich eines Reaktorunfalles soll die Radioaktivität kontaminierter Luft über Filter autoradiographisch nachgewiesen worden sein (39). Die von den Staubteilchen mitgeführte Radioaktivität haben Schedling, Müller und Herbst autoradiographisch nach der Kontaktmethode nachgewiesen; eine exakte quantitative Auswertung wurde nicht durchgeführt. Während sich Herbst mit einer nach Teilchengröße geordneten Summierung der Schwärzungsflecken begnügte, bedienten sich die anderen Autoren zusätzlich eines Zählrohres. Altvater und Herbst (1) bemühten sich noch darum, die radioaktive Strahlung durch mehrfachgeschichtete Filme hinsichtlich ihrer Energie und durch fortlaufende Erneuerung der Filmbeläge bezüglich ihrer Lebensdauer zu differenzieren. Alle diese Autoren begnügten sich damit, durch Summieren der Schwärzungspunkte den Schwärzungsgrad abzuschätzen. Meurers (29) unterteilte die "heißen Körner" allerdings in mehrere Gruppen, die er als Ergebnis photometrischer Auswertung erhalten hatte. Eine Vergleichsskala benutzte er hierzu nicht und bezeichnete seine Methode selbst als "quasi-quantitativ".

### II. Quantitativ

Dudley und Dobyns (13) versuchten bei ihren Studien an Knochen, deren Radioaktivität ausschließlich über die Autoradiographie dosimetrisch zu erfassen. Als Filmmaterial verwendeten sie hierzu Eastman Kodak No-Screen Röntgenfilm. Dabei wurden die Eichsubstanzen auf dem gleichen Film wie die Probe exponiert. Die Auswertung erfolgt mit einem Mikrophotometer.

## D. CHEMISCHE AUFARBEITUNG VON MILCH UND MILCHPRODUKTEN FÜR DIE BESTIMMUNG VON $^{90}Sr$

### I. Veraschung

Bei der derzeit niedrigen Aktivitätsrate der wichtigsten Radionuklide in der Rohmilch war eine Veraschung bisher nicht zu umgehen. Die trockene Veraschung hat gegenüber der nassen in chemisch-analytischer Hinsicht keine Vorteile angeboten, ist aber leichter in der Handhabung, wenn auch die elementspezifischen Veraschungstemperaturen (z.B. für Strontium 700 - 800 °, für Caesium 450 - 500 °) streng einzuhalten sind, um Verluste durch Verflüchtigung zu vermeiden. Durch die Veraschung werden auch im Milchfett und Milcheiweiß enthaltene Anteile an Radionukliden für die Analyse miterfaßt.

Eine Methode zur Umgehung der Veraschung wird von Murthy, Coakley und Campbell (32) beschrieben, die das Milcheiweiß mit Trichloressigsäure fällen und die verbleibende Molke als Substrat für die chemisch-analytische Bestimmung benutzen. Dieses Vorgehen kann aber zu Ungenauigkeiten führen, wenn das betreffende Radionuklid an das Eiweiß gebunden ist, was vor allem bei Strontium zu erwarten ist. Bei der Erfassung von $\gamma$-Strahlern kann auf eine Veraschung dann von vornherein verzichtet werden, wenn Aktivität $\gamma$-spektroskopisch bestimmt wird.

### II. Trägerzusatz

Bei radiochemischen Analysen müssen meist kleinste Mengen an Nukliden dargestellt werden. Ihre Gewinnung nach klassischen Methoden stößt aber deshalb oft auf Schwierigkeiten, weil die vorhandenen Konzentrationen sogar bei Überführung in praktisch unlösliche Verbindungen nicht genügen, um eine Fällung herbeizuführen. Um dem zu begegnen, setzt man bestimmte Mengen des gesuchten Elementes in inaktiver Form zu, damit das radioaktive Isotop dann bei der Fällung von diesem mitgerissen wird (Träger).

Der Trägerzusatz erlaubt darüber hinaus, aus dem Verhältnis der zurückgewonnenen zur zugesetzten Substanz die chemische Ausbeute zu berechnen und daraus auch die Gesamtaktivität.

Für die Autoradiographie ist es wesentlich, die vorhandene Radioaktivität auf eine möglichst geringe Substanzmenge (d.h. Trägermenge) zu konzentrieren. Im Falle des Radiostrontiums läßt sich anfangs bei gleichzeitigem

Vorhandensein von Calcium dieses als "nichtisotoper Träger" für das Strontium verwenden (5), so daß unter diesen Umständen die Strontiumträgermengen niedrig gehalten werden können, jedoch immer noch so hoch, daß das "Löslichkeitsprodukt" erreicht wird.

## III. Anreicherung

Verschiedentlich begnügte man sich zur Orientierung mit der direkten Bestimmung der Gesamt-ß-Aktivität der Milch aus der Milchasche. Ihre Differenzierung in natürliche und künstliche ß-Aktivität verlangt jedoch weiteren chemischen Aufschluß. So bestimmte Miserez (30) noch den Kaliumanteil, errechnete daraus den der Erfahrung entsprechenden $^{40}K$-Anteil und schloß dann aus dem Unterschied zwischen Gesamt-ß- und $^{40}K$-Aktivität auf die Kontamination der Milch mit reinen und gemischten ß-Strahlern. Die $^{137}Cs$-Aktivität ist dabei vernachlässigt worden.

In Vorversuchen, die am Institut durchgeführt wurden, führte die autoradiographische Auswertung von Milchasche, also praktisch eine Bestimmung der Gesamt-ß-Aktivität, wegen des derzeit geringen Kontaminationsgrades nicht zum Erfolg. Auch Messungen der Gesamt-ß-Aktivität der Erdalkalifraktion waren autoradiographisch aus dem gleichen Grund ergebnislos. Selbst Expositionszeiten von 2 - 3 Monaten führten zu negativen Ergebnissen.

## IV. Analysen

### 1. Konservative Methoden

Die Erdalkalimetalle werden als Carbonate, Oxalate oder Sulfate gefällt. Der Erdalkalianteil der Milchasche besteht im wesentlichen aus Calcium und Magnesium; Barium und Strontium sind nur in Spuren enthalten. Letztere können gemeinsam nach dem Prinzip der selektiven Löslichkeit entweder durch Nitratfällung mittels rauchender Salpetersäure, durch Alkohol-Äther-Extraktion oder durch Sulfatfällung von den ersteren abgetrennt werden; als Standardmethode gilt heute die Nitratfällung (5).

Die Nitratfällungsmethode beruht darauf, daß sich bei gewissen Salpetersäurekonzentrationen zwar Calciumnitrat löst, Strontiumnitrat aber praktisch unlöslich bleibt. Eine maximale Ausbeute würde mit 73 - 74 %iger Salpetersäure erzielt. Wird die Konzentration der $HNO_3$ zu niedrig gewählt, so verbleibt zwar weniger Calcium im Niederschlag; es geht aber dafür auch mehr Strontium verloren. Im Gegensatz dazu wird bei höheren Säure-

konzentrationen zu viel Calcium mitgefällt. Durch Wiederholung der Nitratfällung kann das Calcium entfernt werden. Diese Methode wird in den vom "Sonderausschuß Radioaktivität" herausgegebenen Richtlinien (5) empfohlen; die absoluten Säuremengen werden variiert. Man erhält mit dieser Methode bessere Ergebnisse als z.B. bei einmaliger Nitratfällung bzw. der Kombination Ausfällung mit 70 %iger $HNO_3$ und nachfolgende Aether-Alkohol-Extraktion, die Ludvieg (28) beschrieben hat.

Etwaige Spuren an $^{140}Ba$ im Strontiumniederschlag werden durch Chromatfällung in schwach essigsaurer, gepufferter Lösung unter Zusatz von Bariumträger praktisch aus dem Niederschlag entfernt. Im Bariumchromatniederschlag läßt sich auch etwa vorhandenes Radium nach vorheriger Reinigung nachweisen.

Das nach weiterer Umfällung als Carbonat vorliegende Strontium ist nun noch von Verunreinigungen mit verschiedenen, meist zu den Seltenen Erden gehörigen Elementen zu reinigen, da diese unter Umständen eine erhöhte Strontium-Aktivität vortäuschen könnten. Die Fällung der Seltenen Erden erfolgt mit konzentriertem Ammoniak unter Zugabe von Yttrium oder 3-wertigem Eisen als Träger. Hiermit entfernt man auch etwa zurückgebliebenes Chromat, wenn dieses vorher mit Wasserstoffperoxyd zu 3-wertigem Chrom reduziert wurde.

Ebenfalls auf dem Prinzip der selektiven Löslichkeit beruht die Sulfatfällung. Von den Sulfaten der Erdalkalifraktion bilden Strontium und Barium fast unlösliche Niederschläge, während sich Calcium und Magnesium in großen Mengen Wasser lösen. Hierbei ist allerdings zu beachten, daß durch den voluminösen Niederschlag der Erdalkalisulfate leicht eine Reihe von trägerfreien Radioelementen mitgefällt werden kann, wenn sie nicht durch Zusatz inaktiver, chemisch verwandter Elemente oder eines sogenannten "Holdback-Carriers" am Ausfallen gehindert werden (5). Ein von Liesler und Hild (27) beschriebenes Verfahren stellt eine Modifikation der Sulfatfällung dar. Hiernach wird eine Strontiumlösung geringer Konzentration mit festem Bariumsulfat geschüttelt. Durch den Zusatz festen $BaSO_4$ bilden sich Mischkristalle von $SrSO_4$ und $BaSO_4$. Bei Vorliegen solcher Mischkristalle ist das Löslichkeitsprodukt für $SrSO_4$ sehr stark herabgesetzt und wesentlich geringer als das des $SrSO_4$ in seiner reinen Form.

Zur Trennung von Strontium und Barium von den übrigen Erdalkalien kann auch deren unterschiedliche Löslichkeit in nichtwässerigen Lösungsmitteln, wie Aceton (5) oder einem Äther-Alkoholgemisch ausgenutzt werden. Man geht hierbei von den Nitraten der Erdalkalien aus. Ludvieg (28), der die-

ses Verfahren mit der Nitratfällungsmethode kombinierte, dampfte hierzu den in 25 %iger Salpetersäure gelösten Erdalkali-Carbonatniederschlag völlig ein und trennte dann das lösliche Calciumnitrat vom unlöslichen Strontium-Bariumnitrat durch Filtration.

Schließlich wurde die direkte Darstellung des Strontiums von manchen Autoren durch die Bestimmung des $^{90}Y$ aus dem Oxalatniederschlag (30) oder den Oxyden (22) der Erdalkalien umgangen. Allerdings wurde hierbei auf die Bestimmung des $^{89}Sr$ verzichtet. Für die Autoradiographie kann diese Methode wegen der kurzen Halbwertszeit des $^{90}Y$ und seiner hohen ß-Energie keine Bedeutung erlangen.

2. Ionenaustausch und Papierchromatographie

Schließlich ist auch versucht worden, die herkömmlichen Verfahren der Strontiumabtrennung durch Ionenaustausch und Papierchromatographie zu ersetzen. Bei der Papierchromatographie können die Aktivitäten direkt auf dem Papier nachgewiesen werden. Nicht nur Strontium, sondern auch die anderen wichtigen Kationen und Anionen könnten auf diese Weise ohne großen Arbeitsaufwand nachgewiesen werden, allerdings genügen die derzeitigen geringen Aktivitäten der Milch den Anforderungen der Methode bei weitem nicht. Ihre Anwendbarkeit beschränkt sich vielmehr nur auf hochgradig kontaminierte Lebensmittel (Cramer (9)).

Auch mit Kationenaustauschsäulen ist die Abtrennung des Strontiums von den übrigen Erdalkalien versucht worden, und zwar zunächst durch Elution des Calciums mit Ammoniumlactat und dann des Strontiums durch Salzsäure (5). Der Calciumreichtum der Milch läßt diese Methoden unpraktisch erscheinen, da einmal sehr große Säulen erforderlich wären, zum anderen beträchtlicher Zeitaufwand in Kauf genommen werden müßte (5). Um mit relativ kleinen Säulen auszukommen, benutzt Davis (10) einen Komplexbildner, die Aethylendiamintetraessigsäure. Bei einem $p_H$-Wert von 5,25 bewirkt die größere Säurebeständigkeit des Calciumkomplexes, daß dieser ungespalten hindurchläuft, während das Strontium dabei frei und an den Ionenaustauscher gebunden wird. Theoretisch müßte sich diese Methode gut für eine Abtrennung des Strontiums aus der Milch eignen, da die Kapazität des Ionenaustauschers nicht vom Milchcalcium in Anspruch genommen wird. Davis berücksichtigt in seinen Versuchen aber nicht den Magnesiumgehalt der Milch. Diesbezüglich wären Schwierigkeiten zu erwarten, da die Stabilitätskonstanten des Strontium- und Magnesiumkomplexes nicht wesentlich voneinander abweichen. Man müßte deshalb zusätzlich wohl auch noch auf andere Trennmethoden zurückgreifen.

# E. EIGENE VERSUCHE

## I. Methodik

### 1. Analysen

#### a) Trägermenge

In der Analysenempfehlung des Sonderausschusses Radioaktivität ist ein Zusatz von 10 ml Strontiumträgerlösung (eingestellt auf 10 mg reines Strontium pro ml Lösungsflüssigkeit) angegeben. Um bei der späteren autoradiographischen Auswertung ein Optimum an Schwärzung zu bekommen, war mit einer möglichst geringen Trägermenge zu arbeiten und deshalb in Vorversuchen das Minimum an Trägermenge zu ermitteln, das noch genügend Substanzmenge garantiert. Von der Standard-Trägerlösung, zu deren Herstellung man 30,4 g Strontiumchlorid ($SrCl_2 \cdot 6\ H_2O$) in einem Liter Wasser auflöst, wurde in Abweichung von o.a. Empfehlung 8, 7, 6, bis herab zu 3 ml zugegeben. Bereits bei 4 ml Standardlösung war die gewonnene Strontiumcarbonatmenge zu gering. Bei den späteren quantitativen Aktivitätsmessungen wurden 5 - 6 ml Trägerlösung als optimal notiert (Probe VIII : 6 ml; Probe IX : 5 ml; Probe XI : 5,5 ml).

Die Zugabe von Barium- und Yttrium-Trägern zur Reinigung des Strontiumniederschlages erfolgte nach Vorschrift (5), und zwar wurden 1 ml Barium-Trägerlösung und 0,5 ml Yttrium-Trägerlösung (beide Lösungen auf 10 mg des reinen Elementes pro ml Flüssigkeit eingestellt) zugefügt.

#### b) Aschegewinnung

Ca. 400 g fettfreie Trockenmilch aus dem Voralpengebiet wurden zunächst über dem Bunsenbrenner vor- und dann im Muffelofen bei 700 °C weiterverascht. 400 g Milchpulver ergaben etwa 30,0 g Milchasche.

Da hiervon jeweils nur 16 g analytisch aufgearbeitet wurden, berechnet sich die entsprechende Magermilchmenge bei einem Gewichtsverhältnis der fettfreien Trockenmilch zur Magermilch von 1 : 10 als $\frac{16 \times 400 \times 10}{30,0} = 2,130$ wenn man einen Fettgehalt von 3,8 % zugrundelegt, ergibt dies 2,215 kg Vollmilch. Diese Zahl weicht etwas von derjenigen ab, die sich aus dem durchschnittlichen Aschegehalt der Vollmilch von 0,75 % (Roeder (34))

errechnet. Hiernach würden 16 g Milchasche 2,133 kg Vollmilch entsprechen.

c) Analysengang

(in Anlehnung an die Vorschriften des "Sonderausschusses Radioaktivität" (5))

1. In einem 600-ml Becherglas wurden 16 g Milchasche mit 4 - 8 ml Strontium- und 1 ml Bariumträgerlösung, 200 ml Wasser und 40 ml konz. Salpetersäure versetzt und unter Rühren solange erhitzt, bis die Lösung klar geworden war.

2. Nach Zugabe von 3 ml konz. Phosphorsäure und einem Überschuß an konz. Ammoniak wurde die Substanz in zwei 200 ml-Zentrifugengläser umgefüllt und zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde abgegossen, dann mit Aqua dest. aufgefüllt, nochmals zentrifugiert und die Waschflüssigkeit ebenfalls abgegossen.

3. Durch Zugabe von 20 ml rauchender Salpetersäure und 20 ml Wasser zu jedem Glas wurde der Rückstand unter Rühren gelöst. Je 35 ml rauchender Salpetersäure wurden pro Zentrifugenglas zugesetzt, die Lösung ca. 30 Minuten lang in Wasser unter Rühren gekühlt, abzentrifugiert und das Überstehende verworfen. Dieser Vorgang wurde mit 35 ml Wasser und 100 ml rauchender Salpetersäure wiederholt, die Rückstände in 20 bis 30 ml Wasser gelöst und die Lösung in einem 40-ml-Zentrifugenglas gereinigt.

4. Die Lösung wurde dann mit konz. Ammoniak alkalisch gemacht, festes Ammoniumcarbonat zugegeben und auf dem siedenden Wasserbad bis zur vollständigen Fällung erhitzt, zentrifugiert und ihr Überstand verworfen.

5. Der Rückstand wurde mit 10 ml Wasser und 28 ml rauchender Salpetersäure versetzt, unter Rühren 30 Minuten gekühlt, zentrifugiert und die überstehende Lösung verworfen. Dieser Punkt wurde wiederholt, um letzte Spuren von Calcium zu beseitigen.

6. Die Reinigung des Niederschlags von Barium erfolgte in der Weise, daß der feste Rückstand mit 10 - 20 ml heißem Wasser in einem 50-ml-Becherglas gelöst und ein Tropfen Methylrot-Indikator zugesetzt wurde. Die überschüssige Säure wurde dann mit Ammoniumhydroxyd ( 2 + 5)

neutralisiert, darauf 1 ml Essigsäure (1 + 2) und 2 ml Ammoniumacetatlösung (230 g/l) zugefügt. Die Lösung wurde auf 30 ml verdünnt, auf dem Wasserbad erhitzt, 2 ml Natriumchromatlösung (240 g/l) zugesetzt und weitere 5 Minuten erhitzt. Die überstehende Flüssigkeit ließ sich dann durch einen Membranfilter absaugen. Das Filtrat wurde anschließend in ein 100-ml-Becherglas überführt, erhitzt, 1 ml Bariumträgerlösung zugegeben, sofort gerührt und nochmals 5 Minuten erhitzt. Die beiden Rückstände wurden verworfen.

7. Zur Reinigung des Filtrates von den Seltenen Erden diente zunächst eine weitere Carbonatfällung unter den oben angegebenen Bedingungen (Alkalisieren mit Ammoniumhydroxyd, Zugabe von Ammoniumcarbonat, Erhitzen auf dem Wasserbad), wonach wie folgt verfahren wurde: Der Niederschlag wurde in verdünnter Salpetersäure gelöst, dann 3 Tropfen 30 %iges Wasserstoffperoxyd und 0,5 ml einer auf 10 mg Y/ml eingestellten Yttriumträgerlösung zugegeben, darauf erhitzt und das Kohlenstoffdioxyd unter Rühren entfernt. Im Anschluß daran wurde die Lösung auf 15 - 20 ml verdünnt, mit carbonatfreiem Ammoniak alkalisch gemacht, erhitzt und bis zur völligen Abscheidung gerührt. Es wurde durch einen Membranfilter filtriert und das Filtrat aufgehoben. Der Niederschlag wurde in Salpetersäure (1 + 7) gelöst und der Schritt wiederholt.

8. Das Filtrat wurde mit dem ersten vereinigt und damit eine dritte Carbonatfällung, wie oben angegeben, vorgenommen. Nach Abkühlen wurde die Substanz auf einem gewogenen Filterpapier filtriert, im Trockenschrank bei 110 °C getrocknet und gewogen, das Filtrat aber verworfen.

2. Schichtdicke der Proben

Zunächst galt es, die optimale Schichtdicke für die autoradiographische Auswertung der Substanz zu ermitteln, um mit möglichst geringer Substanzmenge eine homogene Schwärzung des Filmmaterials zu gewährleisten, zwei Dinge, die an sich nur schwer zu vereinen sind. Wenn nämlich im Interesse einer Konzentrierung des $^{90}Sr$ die Probemenge knapp gehalten wird, so kann die Substanz nur so dünn geschichtet werden, daß sich unvermeidliche Unebenheiten störend auf die Schwärzung auswirken, weil man sich von der zur Schwärzungshomogenität erforderlichen maximalen Reichweite der ß-Strahlung zu weit entfernt.

Zur Feststellung des Einflusses der Schichtdicke auf die Schwärzung des Röntgenfilmes wurden die beiden Radionuklide $^{90}Sr$ und $^{204}Tl$ benutzt.

Das Thallium war angesichts seiner dem Strontium ähnlichen ß-Energie ($E_{max}$ = 0,76 MeV) gewählt worden, obwohl wegen seiner etwas geringeren Selbstabsorption mit einem geringfügig veränderten Kurvenverlauf gerechnet werden mußte. Die Radioaktivitäten bewegten sich beim Strontiumpräparat im Bereich von 2 pC/mg Substanz, beim Thalliumpräparat von 5 pC/mg Substanz. Diese wurden in die Aussparungen einer Plexiglasplatte portionsweise mittels absolutem Alkohol solange eingeschwemmt, bis das Niveau der Plattenoberfläche erreicht war. Der Alkohol verdunstete und hinterließ die trockene Substanz, deren Schichtdicke je nach der Tiefe der Aussparungen 0,2 bis 1,1 mm betrug.

Die Ergebnisse zeigten mit wachsender Schichtdicke deutliche, nach oben hin weniger steil ansteigende Zunahme der Schwärzung für Thallium. Bei Strontium erfolgte dagegen oberhalb 0,7 mm Schichtdicke praktisch keine Zunahme mehr. Die Verhältnisse sind in nebenstehender Abbildung graphisch dargestellt. Sie gibt den Einfluß der Schichtdicke des Präparates auf die Schwärzung der photographischen Emulsion wieder.

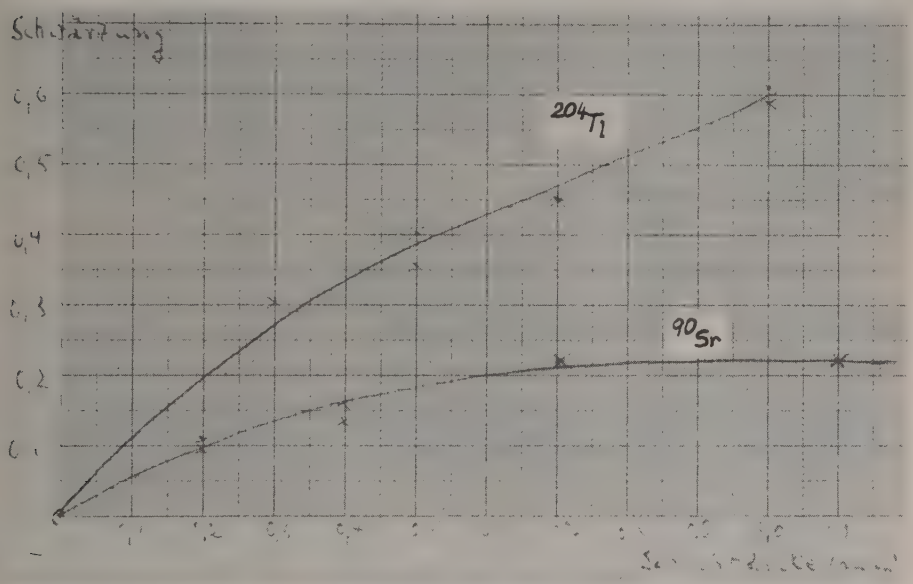



Abb. 2: Einfluß der Schichtdicke des Präparates auf die Schwärzung der Emulsion für Kodak "Regulix" Röntgenfilm.

Der Abbildung ist zu entnehmen, daß sich die Kurven in beiden Fällen einem Grenzwert nähern, der naturgemäß beim weicheren ß-Strahler, dem $^{90}Sr$, eher erreicht wird als bei $^{204}Tl$ mit seiner härteren ß-Strahlung. Trotz Verwendung verschiedener Filmsorten (Kodak-Regulix, Perutz Per-Ex und Agfa-Sino-Röntgenfilm) zeigten sich keine nennenswerten Abweichungen.

### 3. Streubreite

Auch zur Feststellung der Schwärzungsschwankungen bei einer konstanten Schichtdicke von 0,9 mm wurden Vorversuche notwendig. In die Aussparungen zweier Plexiglasplatten von normaler Objektträgergröße wurden acht Proben $^{90}Sr$ (als Carbonat vorliegend) derselben Fällung und gleicher Aktivität (im Bereich von 2,2 pC/mg) eingeschwemmt und mit dem zu prüfenden Filmmaterial (Agfa-Sino, Kodak-Regulix) belegt. Die Größe der Aussparungen betrug bei annähernd rechteckiger, an den Ecken abgerundeter Form 2,5 x 6 mm, ihre Tiefe 0,9 mm und ihr Füllgewicht 13,2 $\pm$ 2,0 mg. Sie waren so angeordnet, daß sie die Fläche des aufliegenden Röntgenfilmes vom Format 6 x 9 cm in regelmäßigen Abständen bedeckten. Die Expositionszeiten betrugen für den Kodakfilm 5 bzw. 11 Tage und beim Agfafilm 5 Tage. Nach photometrischer Auswertung der Filme ergaben sich folgende Schwärzungswerte:

bei 5-tägiger Exposition:

a) Agfa-Sino-Röntgenfilm : S = 0,37 $\pm$ 0,02
b) Kodak-Regulix- " : S = 0,21 $\pm$ 0,01

und bei 11-tägiger Exposition im Falle des

Kodakfilmes : S = 0,61 $\pm$ 0,03.

Die Streubreite betrug demnach für den Agfafilm 5,4 % und für den Kodakfil 4,8 bzw. 4,9 % der mittleren Schwärzungen.

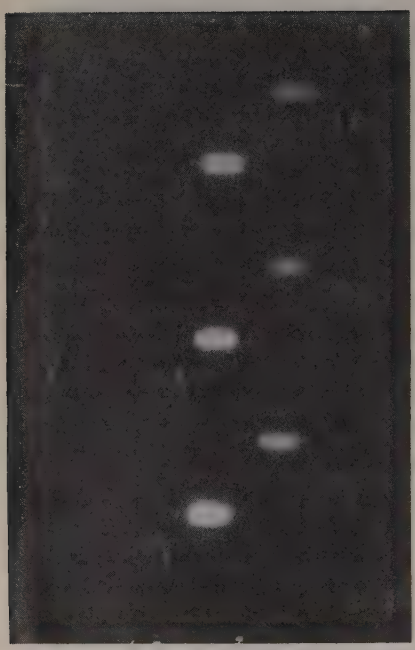
### 4. Eichpräparate

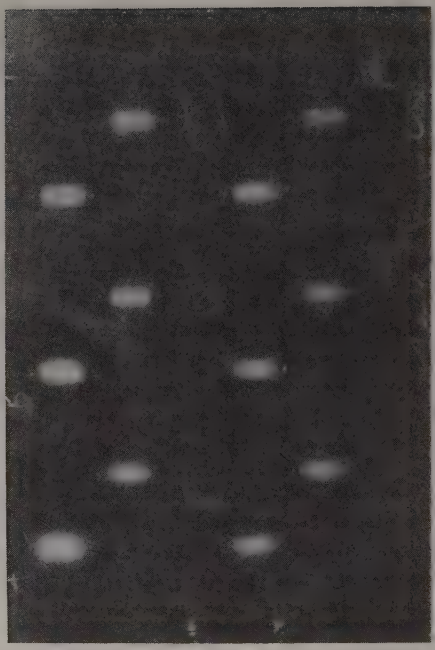
Zur Aufstellung der Eichkurve für den Film wurde eine $^{90}Sr$-Standardlösung benutzt. Nach 100-facher Verdünnung der Lösung - deren Aktivität mit $1,7 \times 10^{-9}$ C/ml angegeben war - mit destilliertem Wasser wurden wechselnde Mengen davon mit jeweils der gleichen Menge an stabilem Strontium-

chlorid zusammengebracht und das ganze in 100 ml Wasser gelöst. Aus den so erhaltenen Lösungen wurde das Strontium jeweils als Carbonat ausgefällt und die getrockneten Niederschläge nach einer Wartezeit von ca. 14 Tagen mit dem Zählrohr gemessen. Zur Feststellung des Meßbereichs wurden zunächst 4 solche Eichpräparate hergestellt, deren Radioaktivität sich jeweils gegenüber dem vorhergehenden verdoppelte. An sich hätte diese Anordnung für die Aufstellung einer Eichkurve genügt, im interessierenden Kurvenbereich sollten die Werte aber mehr konzentriert, die Abstände also enger gelegt werden. Deshalb wurden anstelle von 4 nunmehr 6 Eichpräparate dergestalt hergestellt, daß zu je 180 mg Strontiumchlorid unterschiedliche Mengen einer verdünnten $SrCl_2$-Lösung zugesetzt wurden, und zwar bei Präparat F 3 ml, bei E 4 ml, bei D 5,3 ml, bei C 7 ml, bei B 9 ml und bei A 12 ml. Das Strontium wurde aus diesen Lösungen durch Zugabe von festem Ammoniumcarbonat im alkalischen Milieu als Carbonat gefällt und nach 14-tägiger Wartezeit (zur Erreichung des radioaktiven Gleichgewichts zwischen $^{90}Sr$ und $^{90}Y$) die Radioaktivität der Eichpräparate mit dem Zählrohr bestimmt. Die Fehlergrenze der Messungen lag je nach der Zählrate bei ± 3 % bis ± 5 %. Die Ergebnisse beliefen sich bei

| | | |
|---|---|---|
| Präparat | A | auf 0,80 |
| | B | auf 0,62 |
| | C | auf 0,41 |
| | D | auf 0,31 |
| | E | auf 0,25 |
| und | F | auf 0,19 pC/mg Substanz. |

Die Präparate waren in 2 Reihen angeordnet, die sich am Rand einer 6 x 9 cm großen Fläche (Filmgröße) befanden, während in der Mitte der Fläche das Endprodukt der Milchproben, nämlich 3 Proben in doppelter Ausfertigung (Probe VIII, IX und XI) zu liegen kamen. Das ganze wurde unter Zwischenlegen einer dünnen Aluminiumfolie mit Röntgenfilm bedeckt. Ein anderes Stück desselben Filmes bedeckte eine Doppelserie der genannten Eichpräparate. In allen Fällen betrug die Schichtdicke der Substanz 0,9 mm.





Bilder der Eichpräparate und Proben auf dem Röntgenfilm
(Erläuterung siehe Text)

5. Filmsorten

Als Standardfilm wurde der "Regulix"-Röntgenfilm der Firma Kodak verwendet, der zwei Schichten von 25 µ Dicke besitzt; daneben wurden aber auch Filme anderer Hersteller auf ihre Eignung geprüft. Ihre Empfindlichkeit liegt zum Teil unter (Perutz "M"), z. Teil über (Perutz "Per-Ex"; Agfa "Sino" ) der des Kodak-Filmes. Mit dem Agfa "Sino"-Röntgenfilm ließ sich bereits nach 12-tägiger Exposition eine Auswertung vornehmen. Dieser Film zeichnet sich durch hohe Empfindlichkeit bei entsprechender Grobkörnigkeit und starker Schleierung aus.

## 6. Belichten, Entwickeln und Fixieren der Filme

Die Exposition erfolgte unter Lichtabschluß in einem Exsiccator bei einer Temperatur von 5 °C, um so eine Regression der Schwärzung zu vermeiden, denn bei höheren Temperaturen müßte, wie Boyd (4) fand, in Holz und Papier mit der Abspaltung von $H_2O_2$ gerechnet werden, die der Reduktion des Silberbromids in der Filmschicht entgegenwirken würde.

Die Präparate wurden mit den dazugehörigen Filmen in Kopierrahmen eingelegt und der Agfa-Film 12, der Kodak-Film 30 Tage belichtet.

Zur Entwicklung der Filme wurde der Röntgenfilmentwickler "Röntogen Rapid" der Firma Tetenal, Hamburg, verwendet. Die Entwicklungszeit betrug 5 Minuten, bei einer Temperatur des Entwicklerbades von 20 ° ± 1,5 °C. Dabei war darauf zu achten, daß die Filme während des Entwickelns bewegt und von einer 1 cm hohen Flüssigkeitsschicht bedeckt wurden. Nach 30 Sekunden Wässerung wurden die Filme mit dem "Express"-Röntgenfilm-Fixiersalz der gleichen Firma so lange fixiert, bis die doppelte der zur Klärung der unbelichteten Stellen benötigten Zeit erreicht war. Die Temperaturbedingungen waren die gleichen wie bei der Entwicklung. Anschließend wurden die Filme eine halbe Stunde oder mehr (nach der jeweiligen Vorschrift der Filmhersteller) und - nach den Angaben von Angerer und Joos (2) - mit einem Fensterleder unter dem Wasserstrahl abgerieben, um vor dem Trocknen nochmals mit destilliertem Wasser oder 1 %iger Essigsäure nachgespült zu werden. Bis zur Beendigung des Fixierens wurde bei totaler Dunkelheit gearbeitet.

## 7. Photometrische Auswertung

Zur Auswertung stand ein Schnellphotometer der Firma Leitz, Wetzlar, kombiniert mit einer Registriervorrichtung der Firma Rhode, München, zur Verfügung. Eine automatische Spannungsregelung, Kontrolle der Laufgeschwindigkeit u.a.m. sind im Instrument eingebaut. Die Spaltweite beträgt 2 mm, die Höhe des Spaltes 20 mm und die Vergrößerung der Filme 1 : 30. Um die Wanderung des Photometerspaltes in seiner Richtung festlegen zu können, wurden die Schwärzungsflecken der Länge nach durch eine gedachte Mittelachse halbiert und an deren Enden 2 Markierungspunkte angelegt, auf welche dann die Mitte des Photometerspaltes eingestellt wurde. Das Gerät ist mit einer automatischen Registriervorrichtung kombiniert. Für die Ablesung des Durchschnittswertes der Schwärzung sowie des Untergrundes aus den Kurven bedarf es nur des Einzeichnens je einer Hilfslinie, die in der Mitte der extremen Werte beider verläuft.

Streng rechteckige Aussparungen waren infolge technischer Unzulänglichkeiten nicht aus der Plexiglasplatte auszustanzen gewesen, so daß abgerundete Ecken in Kauf genommen werden mußten. Die Schwärzung auf dem Film nahm also nicht rechteckige, sondern mehr ovale Form an. Infolgedessen wiesen auch die Photometerkurven keine rechteckige, sondern mehr trapezförmige Gestalt auf, weil in den Ecken der Lichtspalt auch ungeschwärzte Flächen bedeckt. x)

8. Schwärzungskurven

Die nach den ermittelten Werten für die Kontrollpräparate erstellte Schwärzungskurve besitzt die Form einer geraden Linie, deren Ausgangspunkt sich aus den Mittelwerten, nämlich dem mittleren Schwärzungswert (= Abszisse) und der mittleren Radioaktivität pro mg Substanz (= Ordinate) ergibt. Der Verlauf der Linie wird ferner durch den Richtungskoeffizienten R bestimmt, welcher die Neigung der durch den Ausgangspunkt hindurchlaufenden Geraden festlegt. Der Richtungskoeffizient berechnet sich nach der Formel:

$$R = \frac{\sum (x_i - M_x)(y_i - M_y)}{\sum (x_i - M_x)^2},$$

wobei $x_i$ und $y_i$ Einzelwerte der Radioaktivität bzw. der Schwärzung, $M_x$ und $M_y$ Mittelwerte derselben darstellen (20). Die zugrundeliegenden Schwärzungswerte der ersten Messung betrugen bei Verwendung von Agfa-"Sino"-Röntgenfilm für das

| Kontroll-präparat | Schwärzung bei Verwendung von: Agfa "Sino" | Kodak "Regulix" |
|---|---|---|
| F | 0,060 u. 0,076 | 0,083 u. 0,080 |
| E | 0,081 u. 0,089 | 0,108 u. 0,110 |
| D | 0,100 u. 0,102 | 0,136 u. 0,149 |
| C | 0,149 u. 0,150 | 0,190 u. 0,185 |
| B | 0,204 u. 0,277 | 0,244 u. 0,253 |
| A | 0,291 u. 0,277 | 0,339 u. 0,349 |

Bei den aufgeführten Zahlen handelt es sich um die Resultate doppelter

x) Im Original befinden sich Ausschnitte einer Photometerkuve der Registriereinrichtung. Sie ist einzusehen im Dekanat der Tierärztlichen Fakultät der Universität München.

Ansätze der gleichen Probe. Die entsprechenden Radioaktivitäten pro mg Substanz sind oben angegeben.

9. Ermittlung der Radioaktivität der Proben aus den Schwärzungswerten

Die Schwärzungswerte für die drei Doppelproben wurden dann in das Diagramm der Schwärzungswerte der Eichpräparate derart eingezeichnet, daß deren jeweiliger Mittelwert aus den Photometermessungen zur Eichkurve in Beziehung gesetzt wurde. Die zugehörige Radioaktivität konnte dann für jeder (doppelt angesetzten) Proben auf der Abszissenachse abgelesen werden.

Die unterschiedlichen Schwärzungen (s. a. Schwärzungskurve) bei Proben gleichen Ausgangsmaterials sind zum Teil auf die Zugabe nicht ganz einheitlicher Strontium-Trägermengen zurückzuführen. Würde unter Vernachlässigung des geringen Eigenstrontiumgehaltes der Milch alles zugefügte Strontium zurückgewonnen, so wäre bei Probe VIII 101,4, bei Probe IX 84,5 und bei Probe XI 92,9 mg Strontiumcarbonat gefällt worden. Eine 100 %ige Ausbeute kann allerdings praktisch kaum erwartet werden, da stets ein Teil des Strontiums, bedingt durch die Analysentechnik, verloren geht. Bei der Messung der Eichpräparate mit dem Zählrohr wurde deren Aktivität auf mg Substanz (Strontiumcarbonat) bezogen. Da die autoradiographischen Messungen auf der Aktivität der Eichpräparate basieren, bezieht sich die Probenaktivität ebenfalls auf mg Substanz.

Als Gesamtaktivität der Milchproben (16 g Milchasche entsprechend) muß folglich das Produkt aus gemessener Radioaktivität/mg Substanz und zu erwartender Strontiumcarbonatmenge bei 100 %iger Ausbeute angenommen werden (5).

II. Autoradiographisch ermittelte Aktivitäten

Um sicherzustellen, daß die Proben außer $^{90}Sr$ und $^{90}Y$ keine anderen Isotope enthalten, wurden die Präparate noch mehrere Male mit Filmen der angegebenen Sorten belegt. Expositionszeit, Entwicklung, Fixierung und Auswertung stimmten dabei mit denen des ersten Versuches überein. 4 Filme vom Typ "Kodak-Regulix" und 6 Filme vom Typ "Agfa-Sino" wurden ausgewertet und die Filme der zeitlichen Reihenfolge nach mit großen Buchstaben unter Bezeichnung des Typs, z.B. "Kodak-Regulix B" benannt.

Im einzelnen wurden dabei für die Proben nach dem Diagramm folgende

Aktivitäten in pC/mg Substanz ermittelt; für den

Agfa "Sino"-Röntgenfilm

| Film | A | B | C | D | E | F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | in pC/mg Substanz | | | | | |
| Probe VIII | 0,310 | 0,290 | 0,280 | 0,270 | 0,235 | 0,295 |
| Probe XI | 0,335 | 0,315 | 0,305 | 0,320 | 0,285 | 0,310 |
| Probe IX | 0,370 | 0,345 | 0,330 | 0,340 | 0,350 | 0,345 |

Kodak "Regulix"-Röntgenfilm

| Film | A | B | C | D |
|---|---|---|---|---|
| Probe VIII | 0,295 | 0,290 | 0,305 | 0,280 |
| Probe XI | 0,305 | 0,310 | 0,330 | 0,305 |
| Probe IX | 0,340 | 0,360 | 0,365 | 0,360 |

Ein "Abklingen" der Radioaktivität konnte in den Proben während eines Zeitraumes von 9 Monaten nicht beobachtet werden. Einem anfänglichen Aktivitätsabfall in den Proben des Agfa-Filmes B - E steht beim Kodak-Film B und C (der zeitlichen Reihenfolge entsprechend steht der dritte Kodak-Film zwischen dem 4ten und 5ten Agfa-Film) ein Anstieg gegenüber. Die unterschiedlichen Werte dürften vielmehr durch die Inhomogenität der Probensubstanz bedingt sein, die noch durch die bei der Auswertung der Photometerkurven auftretenden Ablesungsungenauigkeiten infolge Unregelmäßigkeiten des Kurven-"Plateaus" verstärkt werden können.

Die Gesamtaktivität der Proben errechnet sich durch Multiplikation der aus dem Diagramm entnommenen Aktivitätswerte bezogen auf mg Substanz (Strontiumcarbonat) mit dem der jeweiligen Trägermenge entsprechenden Faktor, der die durch die Analyse verursachten Aktivitätsverluste korrigiert. Unter Zugrundelegung des Mittelwertes der den Diagrammen für eine Filmsorte entnommenen Probenaktivitätswerte pro mg Substanz ergeben sich für die Gesamtaktivität der Proben (jeweils 16 g Milchasche) folgende Werte:

| Probe Nr. | Träger-zugabe (mg Sr) | durchschn. Aktivität (pC/mg Subst.) | Faktor | | Gesamt-aktivität der Probe (pC) |
|---|---|---|---|---|---|
| | | bei Agfa-Film | | | |
| VIII | 60 | 0,278 | 101,4 | 28,2 ) | |
| XI | 55 | 0,312 | 92,9 | 29,0 ) | 28,8 |
| IX | 50 | 0,347 | 84,5 | 29,3 ) | |
| | | bei Kodak-Film | | | |
| VIII | 60 | 0,293 | 101,4 | 29,7 ) | |
| XI | 55 | 0,312 | 92,9 | 29,0 ) | 29,6 |
| IX | 50 | 0,356 | 84,5 | 30,1 ) | |

Bezieht man die Gesamtaktivitäten (Agfa-Film = 28,8 pC, Kodak-Film = 29,6 pC) unter Zugrundelegung der Annahme, daß 16 g Milchasche 2,175 kg Vollmilch entsprechen, auf 1 kg Vollmilch, so errechnet sich dessen $^{90}Sr$-Aktivität im Falle des Agfa-Filmes zu 13,2 pC/kg und beim Kodak-Film zu 13,6 pC/kg.

Der Wert 2,175 stellt das Mittel der Zahlen 2,215 und 2,133 dar. Die Differenz von 0,082 zwischen beiden resultiert daraus, daß einmal das Aschegewicht von 16 g zu dem experimentell ermittelten Aschegewicht (30 g) einer bekannten Milchpulvermenge (400 g) unter Annahme eines Gewichtsverhältnisses der Trockenmilch zur Magermilch von 1 : 10 zugrundegelegt wurde, zum anderen aber unter Heranziehung von Tabellen die Vollmilchmenge direkt aus dem Aschegewicht des verwendeten Milchpulvers errechnet wurde. Im ersteren Falle war die Magermilchmenge entsprechend auf Vollmilch umgerechnet worden.

Die Schwärzungswerte der Proben und Eichpräparate können aus den beiliegenden Diagrammen entnommen werden. Hier sei nur die maximale Abweichung vom Mittelwert (Streubreite) wiedergegeben. Diese betrug im Schwärzungsbereich der Proben (S = 0,12) $\pm$ 10,4 %, im extremen Falle (für S = 0,08) $\pm$ 12 %. Diese Schwankungen beziehen sich auf die gemes-

senen Schwärzungswerte und könnten mit den Schwankungen der zugehörigen Aktivitäten nur gleichgesetzt werden, wenn der Richtungskoeffizient der Eichkurve R = 1 wäre. Da der durchschnittliche Richtungskoeffizient der Kurven 0,4 beträgt, liegt die Streubreite bei 26 % (anstelle von 10,4 %) bzw. 30 % (anstelle von 12 %).

## F. DISKUSSION

Die erhaltenen $^{90}Sr$-Aktivitäten von 13,2 (Agfa) bzw. 13,6 (Kodak) pC/kg Milch aus dem Voralpengebiet liegen im Bereich der 1959/60 im Bundesgebiet mittels Zählrohr gemessenen $^{90}Sr$-Aktivitäten: in Kiel hatte man 1959 8,8 pC/kg Milch, 1960 9,9 pC/kg Milch gemessen, in Lindau 1960 8,2 pC/g Calcium und im Baden-Württemberg'schen Raum 15,7 pC/kg Milch. Diese Zahlen sind angesichts der oft beträchtlichen zeitlichen und regionalen Schwankungen des Fallouts nur bedingt miteinander vergleichbar, zumal Gebiete mit hohen Niederschlagsmengen und Gebirgslagen, und hier wieder regenreiche Westabhänge dem Fallout stärker ausgesetzt sind.

Hinzu kommen noch Unterschiede in Tierhaltung und -fütterung. Im allgemeinen begünstigt Weidehaltung eine erhöhte Inkorporierung an Radionukliden. Werte von 13,2 bis 13,6 pC in der Milch des bayerischen Alpenvorlandes überraschen daher nicht, wenn man bedenkt, daß dieses Gebiet eine recht hohe Lage über dem Meeresspiegel mit hohen Niederschlagsmengen vereint und zudem Weidegang die vorherrschende Form der Viehhaltung darstellt.

Hinsichtlich Anwendungsbereich, Empfindlichkeit und Genauigkeit kann die autoradiographische Methode kaum mit Zählrohrmessungen konkurrieren, doch scheint sie im Falle des Nachweises von $^{90}Sr$ durchaus geeignet, diese sinnvoll zu ergänzen. $^{90}Sr$ bringt nämlich als monoenergetischer, relativ weicher ß-Strahler günstige Voraussetzungen für seine autoradiographische Erfassung mit. Außerdem besteht die Möglichkeit, mittels Absorptionsfolien Gemische an $^{90}Sr$ und $^{89}Sr$ mit höherer Aktivität ohne zusätzlichen Arbeits- und Zeitaufwand und fast unbeeinflußt von der gleichzeitig auftretenden $^{90}Y$-Strahlung in einem Arbeitsgang befriedigend zu trennen. Sie dürfte jedoch bei geringen Aktivitäten wie z.B. den gegenwärtigen, nur unbefriedigende Ergebnisse bringen, da hier zumindest der niederenergetische Anteil der $^{89}Sr$-Strahlung teilweise von der zwischen Präparat und Filmemulsion plazierten Folie absorbiert werden wird und die wirkliche ß-Aktivität danach zu niedrig ausfällt. Die tatsächliche $^{89}Sr$-Aktivität wird erst durch Multiplikation mit einem Korrekturfaktor erhalten, der bei geringen $^{89}Sr$-Aktivitäten naturgemäß weit mehr ins Gewicht fallen dürfte als bei hohen, die ohnehin auch meßtechnisch genauer zu erfassen sind.

Zum Zeitpunkt der Untersuchungen entfiel das Problem der Trennung des $^{89}Sr$ vom $^{90}Sr$, da damals praktisch kein $^{89}Sr$ in der Milch enthalten war. Zu dieser Annahme berechtigt der Umstand, daß nach wiederholter Exposition kein Abklingen der $^{90}Sr$-Probenaktivität relativ zu derjenigen der Eichpräparate festgestellt werden konnte.

Für Aktivitäten, wie sie im Katastrophenfall zu erwarten sind, dürfte einmal die Identifizierung des $^{89}Sr$ ohne große Schwierigkeit in relativ kurzer Zeit zu bewerkstelligen sein und zum anderen die $^{90}Sr$-Aktivität mit weitaus genauerem Resultat als zum gegenwärtigen Zeitpunkt erfaßt werden können.

Der Fehler betrug bei der Bestimmung der $^{90}Sr$-Aktivität 26 %. Er übersteigt bei den geringen Aktivitäten den der Zählrohrmessung nicht unerheblich, sinkt jedoch bei höherer Aktivität, wie die verminderte Streubreite intensiver Schwärzungen beweist. Stärkere Schwärzungen lassen sich auch bei schwächerer Probenaktivität erzielen, wenn die Expositionszeit verlängert wird. Bei den gegenwärtig geringen Aktivitäten stellt an sich eine 12-tägige Expositionszeit schon einen Kompromiß dar. Wollte man nämlich die Fehlergrenze unter 26 % herabdrücken, so müßte eine längere Belichtungszeit als 12 Tage in Kauf genommen werden, während umgekehrt eine verkürzte Expositionszeit mit der Vergrößerung des Fehlers einhergeht.

Im Katastrophenfall dürfte eine autoradiographische Bestimmung nicht nur des $^{90}Sr$, sondern auch des $^{89}Sr$, das in einem derartigen Fall in verstärktem Ausmaß anfällt, mit hinreichender Genauigkeit bei Expositionszeiten unter 12 Tagen möglich sein.

$^{131}J$ und $^{137}Cs$, zwei weitere gesundheitlich besonders bedenkliche Radionuklide, emittieren gleichzeitig ß- und $\gamma$-Strahlung. Die Energie ihres ß-Strahlenanteils, die sich im Falle der Hauptkomponente der komplexen ß-Strahlung von $^{131}J$ und $^{137}Cs$ nur wenig von der des $^{90}Sr$ unterscheidet, eignet sich für eine quantitative autoradiographische Darstellung recht gut, doch kann ihre Aktivität weit einfacher direkt am Untersuchungsmaterial ohne jeden zeitraubenden chemischen Aufschluß über die abgestrahlte $\gamma$-Strahlung mittels der $\gamma$-Spektroskopie gemessen werden.

Um die Empfindlichkeit der Autoradiographie zu steigern, könnte u.U. von der Kontrastverstärkung Gebrauch gemacht werden. Auch eine Verdoppelung des Effektes durch beidseitiges Belegen der Präparate mit Filmmaterial wäre denkbar. Die Filme sind dabei so zu plazieren, daß eine möglichst lückenlose Erfassung der emittierten Strahlung gewährleistet wird. Allerdings müßte dann die die Präparate aufnehmende Plexiglasplatte entweder sehr viel dünner

gehalten sein, um für den auf der Plattenunterseite gelegenen Film die Absorptionsverluste recht niedrig zu halten oder die Aussparungen ganz durchgestanzt werden.

Der Vorteil der autoradiographischen Methode liegt, abgesehen von ihrem dokumentarischen Wert, vor allem darin begründet, daß sich auch ohne komplizierte Geräte brauchbare Ergebnisse erzielen lassen. Jeglicher apparative Aufwand kann entbehrt werden, wenn die mikrophotometrische Auswertung der Schwärzung durch einen visuellen Vergleich mit einer nach dem Prinzip der Eichtreppe angefertigten, standardisierten Grau-Skala ersetzt wird.

## G. ZUSAMMENFASSUNG

1. Aus der Asche vom Milchpulver des Herstellungsjahres 1959 und 1960 wurde das $^{90}Sr$ nach den Richtlinien der vom Sonderausschuß Radioaktivität herausgegebenen Arbeitsanleitung für $^{90}Sr$ und $^{89}Sr$ als Strontiumnitrat gefällt, das Verfahren aber insoweit modifiziert, als der Trägerzusatz nicht wie vorgeschrieben 100 mg sondern nur noch 50 mg beträgt.

2. Das Strontiumnitrat ($Sr(NO_3)_2$) wird zur antoradiographischen Darstellung zweckmäßigerweise in $Sr\,CO_3$ umgefällt, mit absolutem Alkohol in 2 1/2 x 6 mm große, rechteckige Aussparungen in einer Plexiglasplatte eingeschwemmt und exponiert. Die günstigste Schichtdicke der Substanz betrug 0,9 mm.

3. Unter den auf ihre Eignung hin geprüften hochempfindlichen Filmen erwies sich Agfa-"Sino"-Röntgenfilm bei Aktivitäten von 0,19 - 0,8 pC/mg Substanz bei 12-tägiger Expositionszeit als am vorteilhaftesten. Zum Vergleich wurde noch der Kodak-"Regulix"-Röntgenfilm herangezogen.

4. Die Auswertung der Filmschwärzungen erfolgte mit einem Schnellphotometer der Firma E. Leitz, Wetzlar, in Verbindung mit einem Registriergerät der Firma Rhode, München.
   Die Aktivität der Proben wurde laufend aus Diagrammen ermittelt, welche die Schwärzungs- und Aktivitätswerte von Eichpräparaten, gegeneinander abgetragen, enthielten.
   Umgerechnet auf 1 Liter Vollmilch betrug die $^{90}Sr$-Aktivität bei Verwendung von Agfa-"Sino"-Film 13,2 und bei Verwendung von Kodak-"Regulix" 13,6 pC/kg Milch. Bei 12-tägiger Expositionszeit belief sich der Fehler auf 26 %. Ein Einfluß der Filmsorte auf die Fehlergröße konnte nicht festgestellt werden.

5. Die Abwesenheit von $^{89}Sr$ darf als gesichert angesehen werden, da trotz mehrmaliger Exposition während 9 Monaten kein Abklingen der Strontium-Aktivität zu registrieren war.

## H. LITERATURVERZEICHNIS


1. Altvater, W., und W. Herbst : Beobachtungen über Sedimentationen radioaktiver Partikel in Duisburg im Jahre 1958. Atomkernenergie 4 (1959), 306;

2. Angerer, E., und G. Joos : Wissenschaftliche Photographie. Geest und Portig, Leipzig, 1952;

3. Arens, H., J. Eggert und E. Heisenberg : Zusammenhang zwischen Schleierung, Silbermenge, Deckkraft, Kornzahl und Korndimension entwickelter photographischer Schichten, Zeitschrift für wissenschaftliche Photographie 28, (1930/31), 356;

4. Boyd, G.A. : Autoradiography in Biology and Science. Academic Press, New York, 1955;

5. Bundesministerium für Atomkernenergie und Wasserwirtschaft : Sonderausschuß Radioaktivität, Heft 10, (1959);

6. do. : "Umweltradioaktivität und Strahlenbelastung". (1959, 1960);

7. Burch, P.R.J. : Measurements at Leeds following the Windscale Reactor Accident. Nature 183, (1959), 515;

8. Campbell, J.E., G.K. Murthy, C.P. Straub, K.H. Lewis and J.G. Tewill : Radionuklides in Milk. Journal of Agricultural and Food Chemistry 9 (1961), 117

9. Cramer, F. : Papierchromatographie. Verlag Chemie G.m.b.H., Weinheim/Bergstraße, 1952;

10. Davis, P.S. : Separation of Strontium-90 from Calcium.
Nature 183, (1959), 674;

11. Demott, R.J., and R.G. Cragle : Strontium in Milk (III). Distribution in Cream, Skimmilk, Cheddar Cheese and Whey.
Journal of Dairy Science 43 (1960), 925;

12. Denisoff, A. : Die Zusatzbelichtung photographischer Platten und die photographische Photometrie.
Zeitschrift für wissenschaftliche Photographie 27 (1930), 128;

13. Dudley, R.A., und B.H. Dobyns : The Use of Autoradiographs in the quantitative Determination of Radiation Dosages.
Science 109, (1949), 327;

14. Dudley, R.A., und S.R. Pelc : Automatic Grain Counter for Assessing High Resolution Autoradiographs.
Nature 172 (1953), 992

15. Franke, V., und W. Heintze : Schwärzungsverlauf photographischer Schichten und seine Bedeutung für Lichtphotometrie und Röntgendosimetrie.
Fortschritte auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen 81 (1954), 392;

16. Friedrich, W., und P.P. Koch : Über Methoden zur photographischen Spektralphotometrie der Röntgenstrahlen.
Annalen der Physik 45 (1914), 399;

17. Glocker, R., und W. Traub : Das photographische Schwärzungsgesetz der Röntgenstrahlen.
Physikalische Zeitschrift 22 (1921), 345;

18. Harbers, E. : Handbuch der Histochemie, herausgegeben von W. Graumann und K. Neumann. Fischer, Stuttgart, 1958;

19. Herbst, W. : Zu den Vorgängen der Verbreitung radioaktiver Partikel und der Inhalation radioaktiver Aerosole. Atomkernenergie 4 (1959), 300;

20. Koller, S. : Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen. Steinkopff, Darmstadt, 1953;

21. Kotter, L. : Zur Radioaktivität in Lebensmitteln tierischer Herkunft (Beurteilung). Archiv für Lebensmittelkunde 12, (1961), 9;

21 a. Kotter, L. : Zur Dekontamination von Lebensmitteln tierischer Herkunft. Kongreßbericht des 2. Symposiums der International Association of Veterinary Food Hygienists (I. A. V. F. H.);

22. Kulp, J. L., W. R. Eckelmann and A. R. Schulert : Strontium-90 in Man. Science 125, (1957), 219;

23. Kuprianoff, J., und K. Lang : Strahlenkonservierung und Kontamination von Lebensmitteln. Steinkopff, Darmstadt, 1960;

24. Langendorff, H., und F. Wachsmann : Strahlenschutzüberwachung nach der Filmschwärzungsmethode bei mit radioaktiven Substanzen arbeitenden Personen. Atomkernenergie 3 (1958), 60;

25. Larson, B.L. : Significance of Strontium-90 in Milk (II).
Journal of Dairy Science 43 (1960), 1;

26. Larson, B.L., and K.E. Ebner : Significance of Strontium-90 in Milk (I).
Journal of Dairy Science 41, (1958), 1647;

27. Liesler, K.H. und W. Hild : Zur Abtrennung von Strontium-90 aus Lösungen.
Naturwissenschaften 46, (1959), 599;

28. Ludvieg, F. : Die quantitative Bestimmung von $^{89}Sr$, $^{90}Sr$, $^{140}Ba$ und $^{137}Cs$ in Pflanzen und Milch.
Landwirtschaftliche Forschung 11 (1958), 257;

29. Meurers, H. : Die laufende Überwachung von heißen Teilchen aus der Atmosphäre.
Atomkernenergie 5 (1960), 416;

30. Miserez, A. : Le Strontium-90, son identification et son dosage, spécialement dans le lait.
Mitteilungen für Lebensmitteluntersuchungen und -Hygiene 49 (1958), 36;

31. Morgan, K.Z., and M.R. Ford : Developments in Internal Dose Determinations.
Nucleonics 12 (1954), Heft 6, 32;

32. Murthy, G.K., J.E. Coakley, and J.E. Campbell : A Method for the Elimination of Ashing in Strontium-90 - Determination of Milk.
Journal of Dairy Science 43 (1960), 238;

33. Rajewsky, B. : Wissenschaftliche Grundlagen des Strahlenschutzes. G. Braun, Karlsruhe, 1957;

34. Röder, G. : Grundzüge der Milchwirtschaft und des Molkereiwesens. Parey, Hamburg/Berlin, 1954;

35. Sauerbeck, D. : Streifzug durch die Isotopenforschung in der amerikanischen Landwirtschaft - Lehrvortrag anläßlich der Fachgruppe Isotopenforschung 1959 - zitiert von Heiß, R. Die Radioaktivität der Trinkmilch. Deutsche Molkereizeitung 80 (1959) 1723;

36. Schedling, J.A., und W.A. Müller : Über das Vorkommen relativ stark radioaktiver Teilchen großer Halbwertszeiten im atmosphärischen Aerosol. Atomkernenergie 4 (1959), 72;

37. Telefunken G.m.b.H. : Radionuklidtabelle 1960;

38. Yankwich, P.E., and J.W. Weigl : The Relation of Backscattering to Selfabsorption in Routine ß-Ray Measurement. Science 107 (1948), 651;

39. Wegener, K.H. : Jod-131 nach dem Reaktorunfall in Windscale. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 73 (1960), 52;

40. Wegener, K.H. : Ausscheidung radioaktiver Substanzen mit der Milch. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 72 (1959), 182.

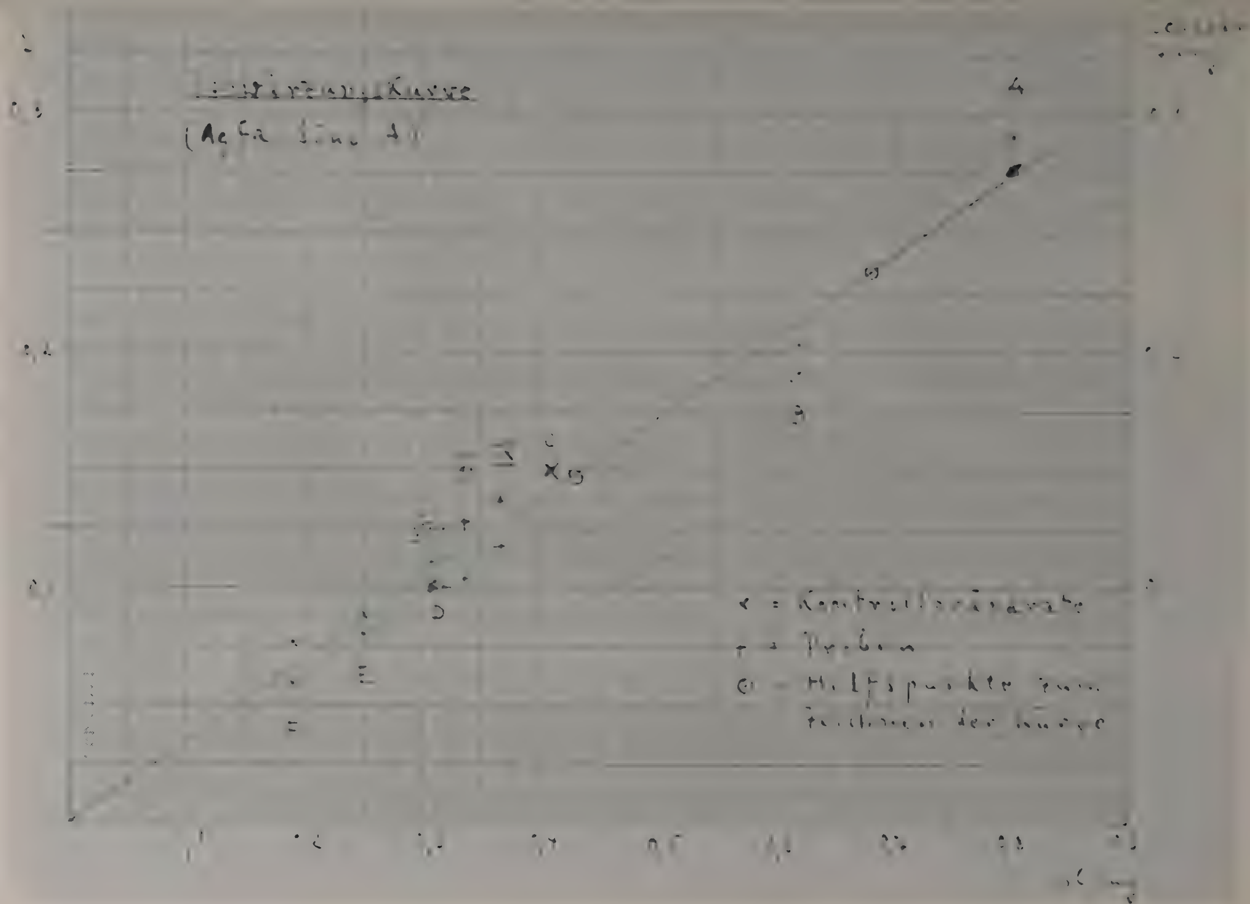
Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Ludwig Kotter sei für die Überlassung des Themas und die mir gebotene Unterstützung bei der Bearbeitung desselben herzlich gedankt. Desgleichen danke ich Herrn Professor Dr. Prändl und Herrn Dr. Kreuzer für ihre Hilfe.

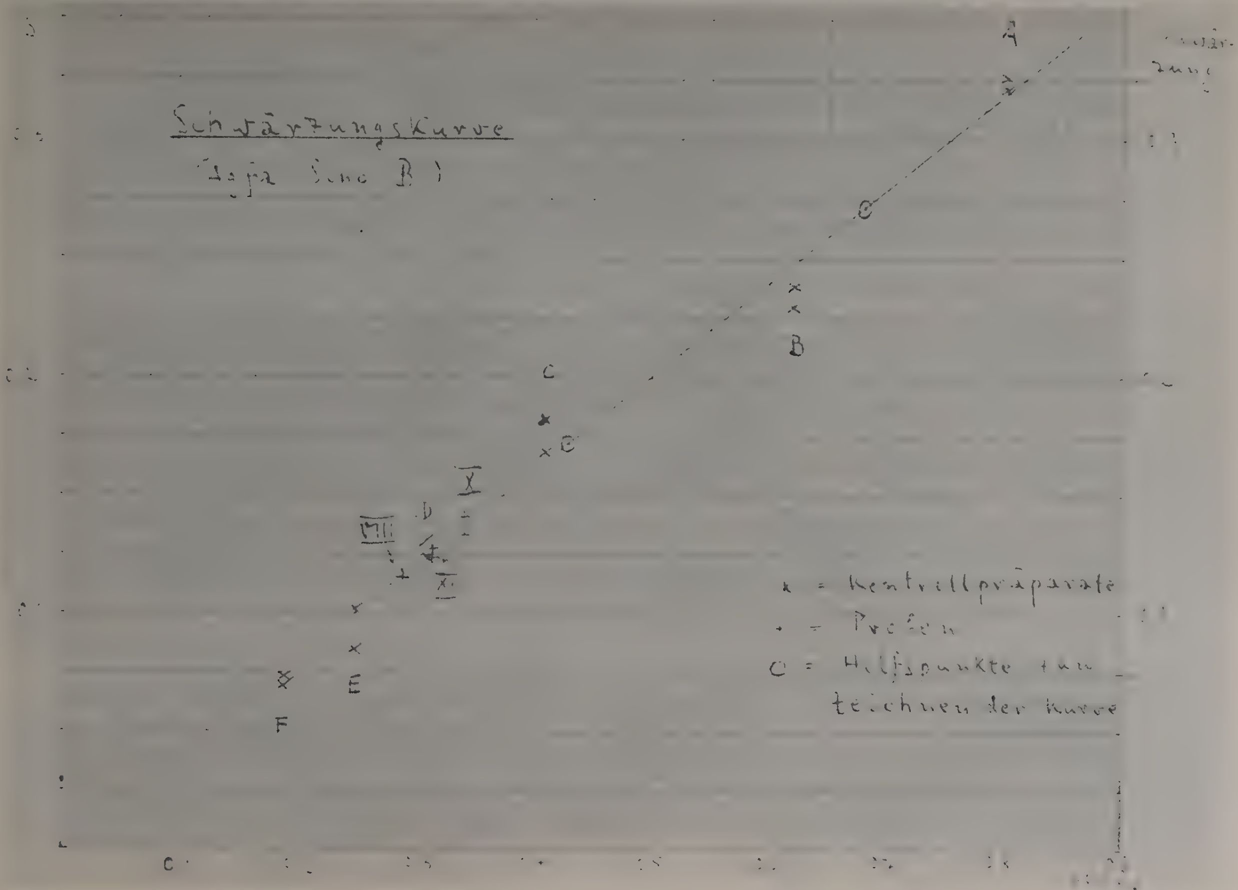
Dem Leiter des Ersten Physikalischen Instituts, München, Herrn Professor Dr. Fässler, sei für die Zurverfügungstellung des Photometers herzlichst gedankt. Ebenso danke ich Herrn Professor Dr. Liebmann, München, und Herrn Professor Dr. Hinzpeter, Hannover, für bereitgestellte Materialien und erteilte Ratschläge.

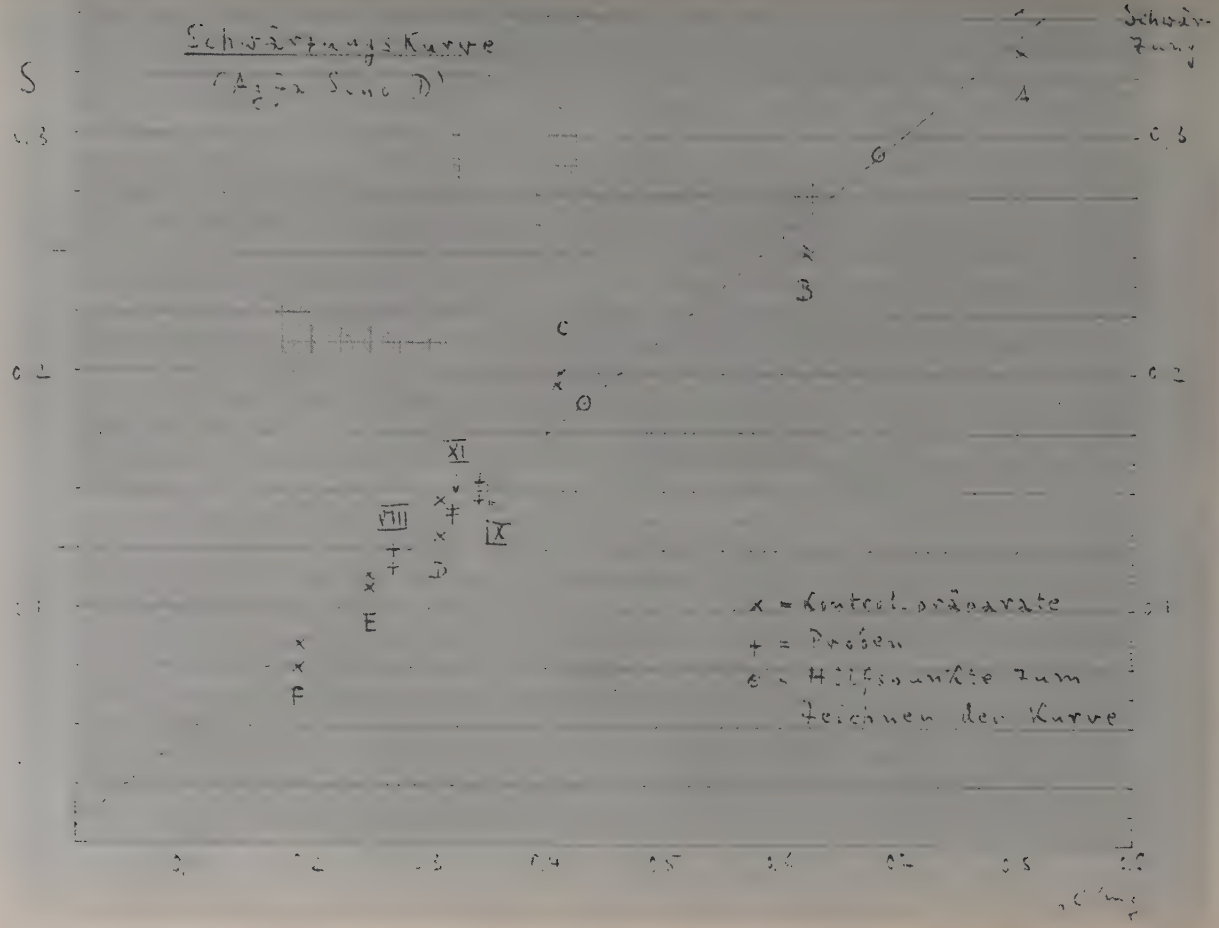
# LEBENSLAUF

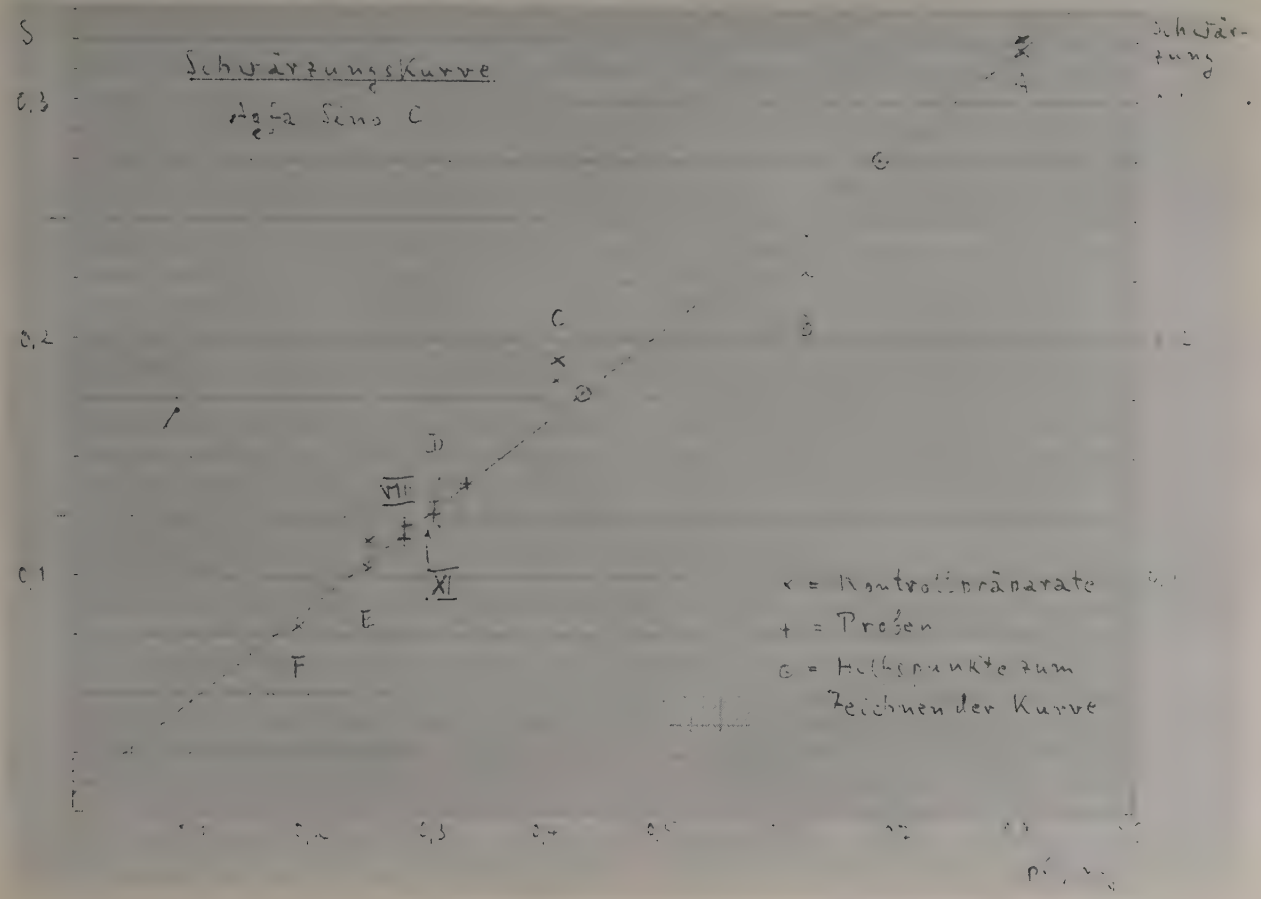
Ich wurde am 1. September 1915 in Leipzig geboren, besuchte die Schillerschule (Städtisches Realgymnasium) und schloß Ostern 1934 mit der Reifeprüfung ab.

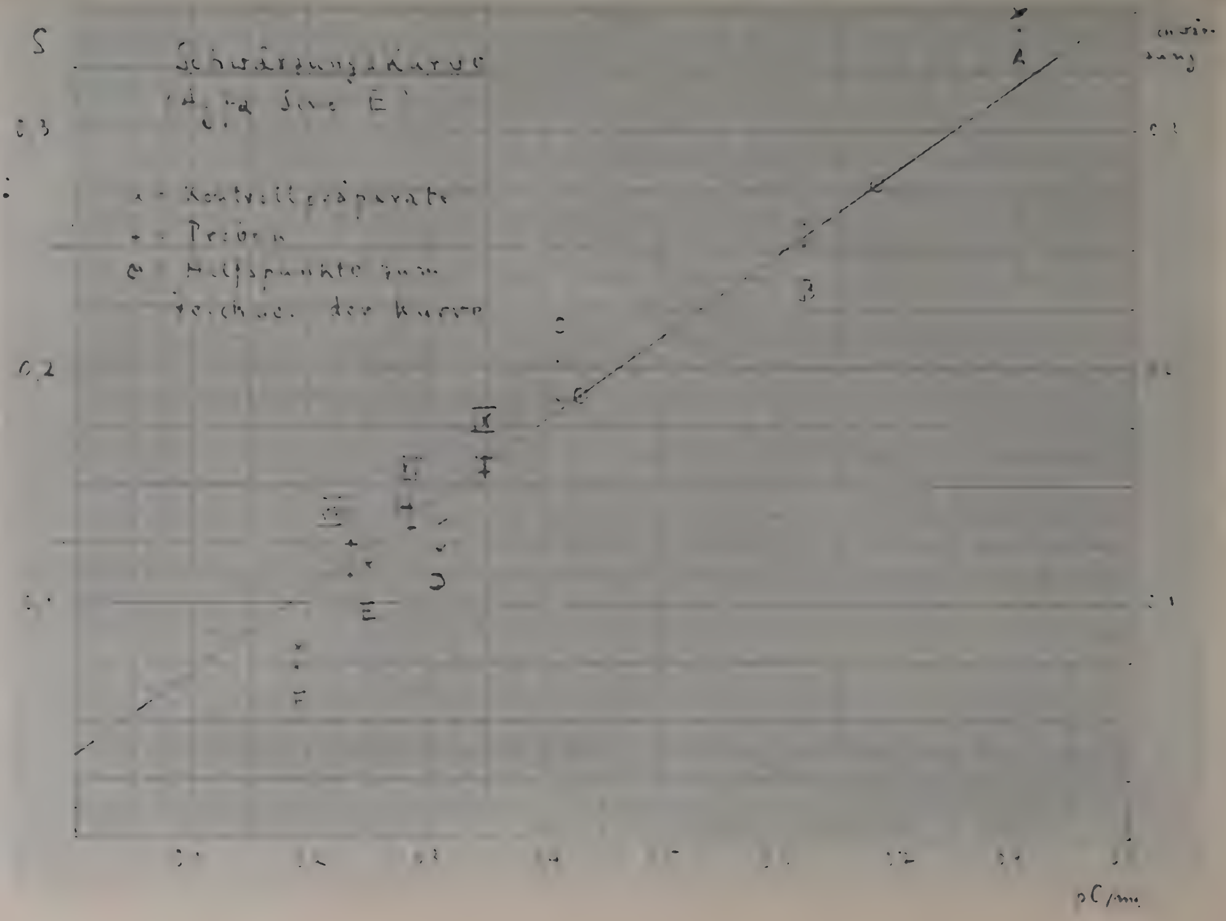
Anschließend wandte ich mich der Tierzucht zu und übte diesen Beruf auch in England und später in Israel aus. 1956 kehrte ich nach Deutschland zurück und studierte in Hannover und München Tiermedizin. Ich schloß mein Studium im August 1961 mit dem tierärztlichen Staatsexamen an der Maximilians-Universität in München ab.

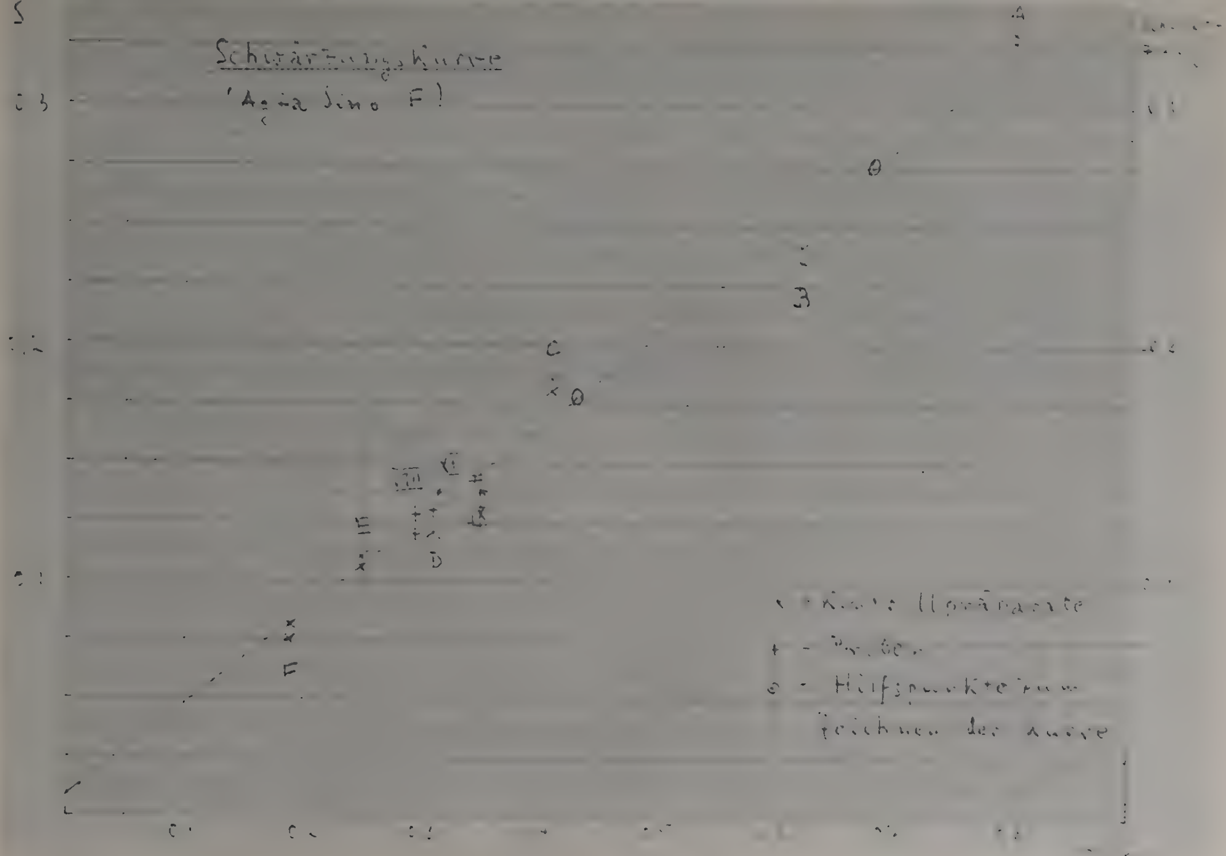

x = Kontrollpräparate
+ = Proben
⊙ = Hilfspunkte zum Zeichnen der Kurve

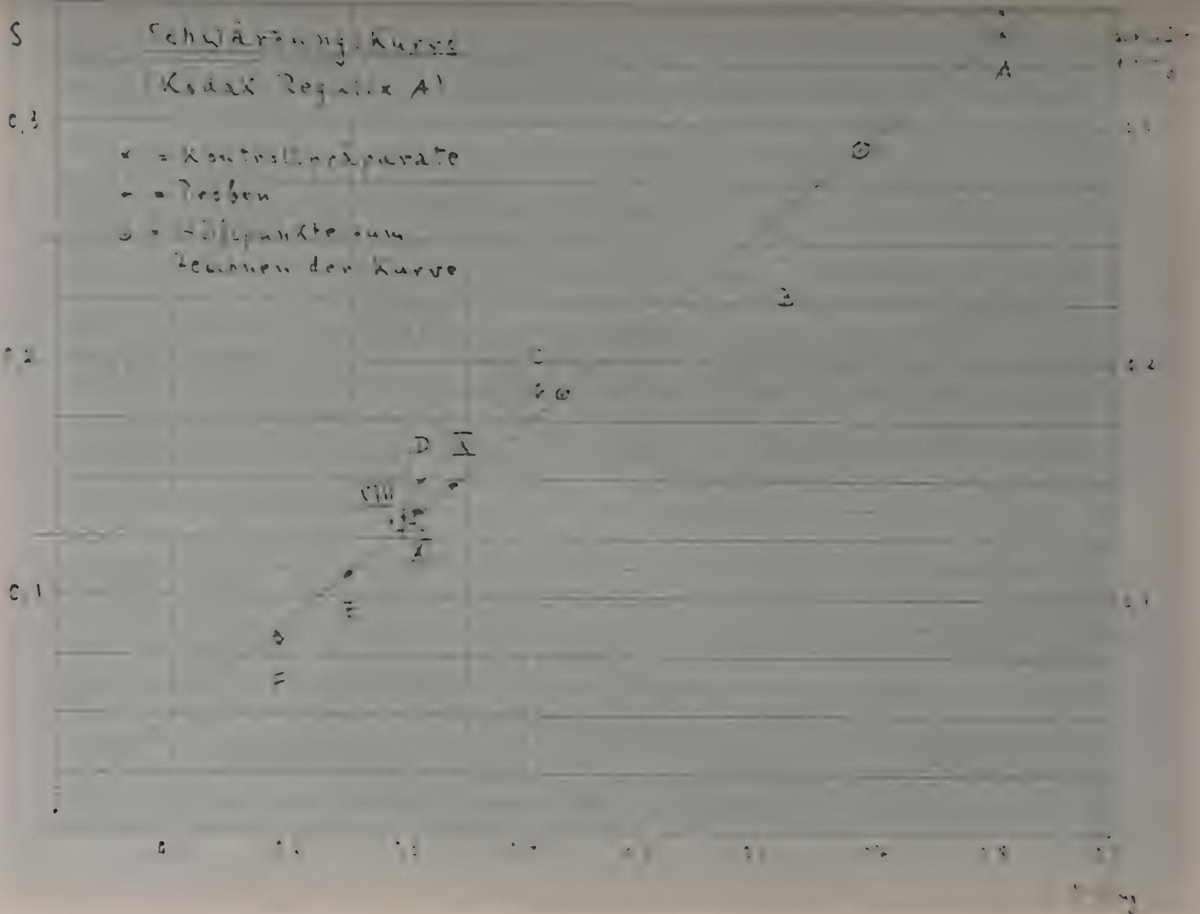

Schwärzungskurve
A
B
C
D
E
F
x = Kontrollpräparate
+ = Proben
○ = Hilfspunkte zum Zeichnen der Kurve

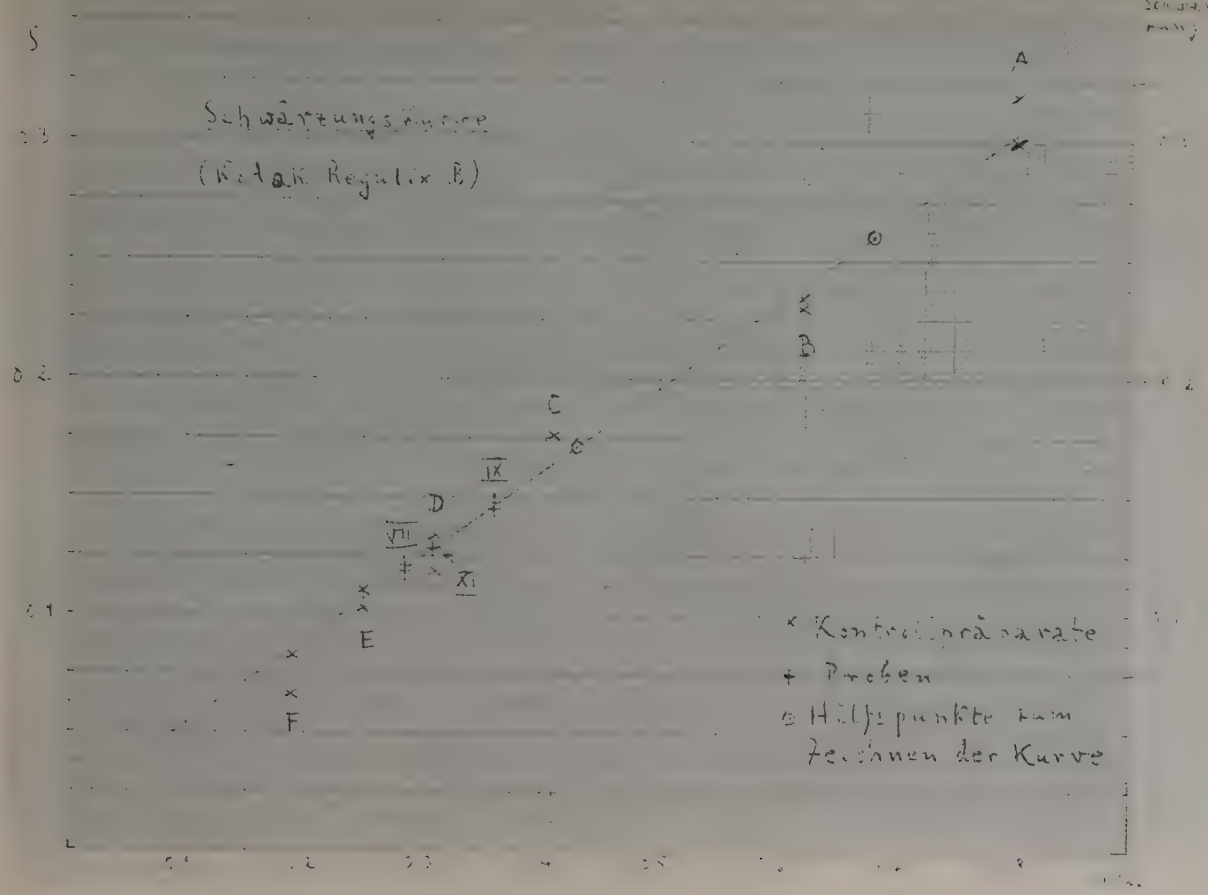

Schwärzungskurve
S
Schwärzung
A
B
C
D
E
F
XI
VIII
IX
x = Kontrol-präparate
+ = Proben
o = Hilfspunkte zum
Zeichnen der Kurve

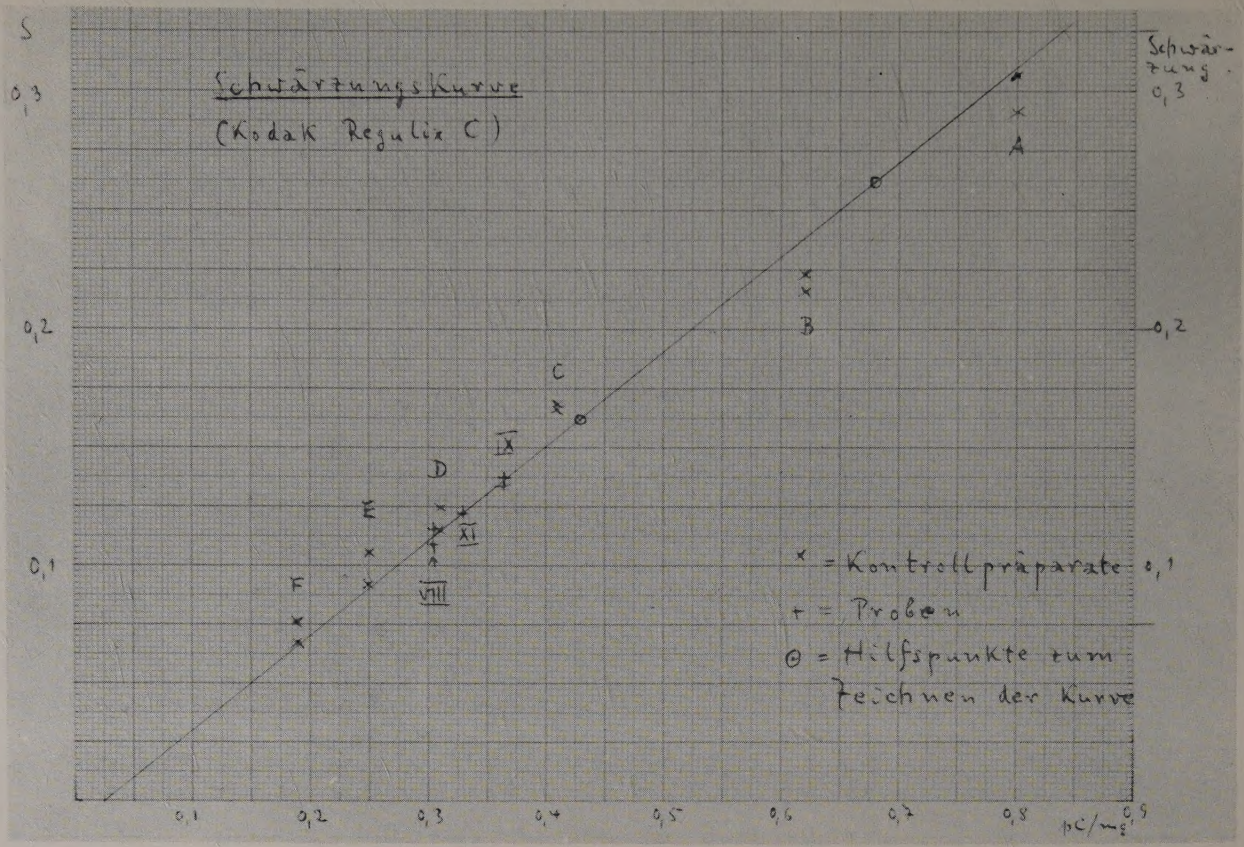

Schwärzungskurve
log sins C
0,3
0,2
0,1
C
D
VII
XI
E
F
x = Kontrollpräparate
+ = Proben
o = Hilfspunkte zum Zeichnen der Kurve

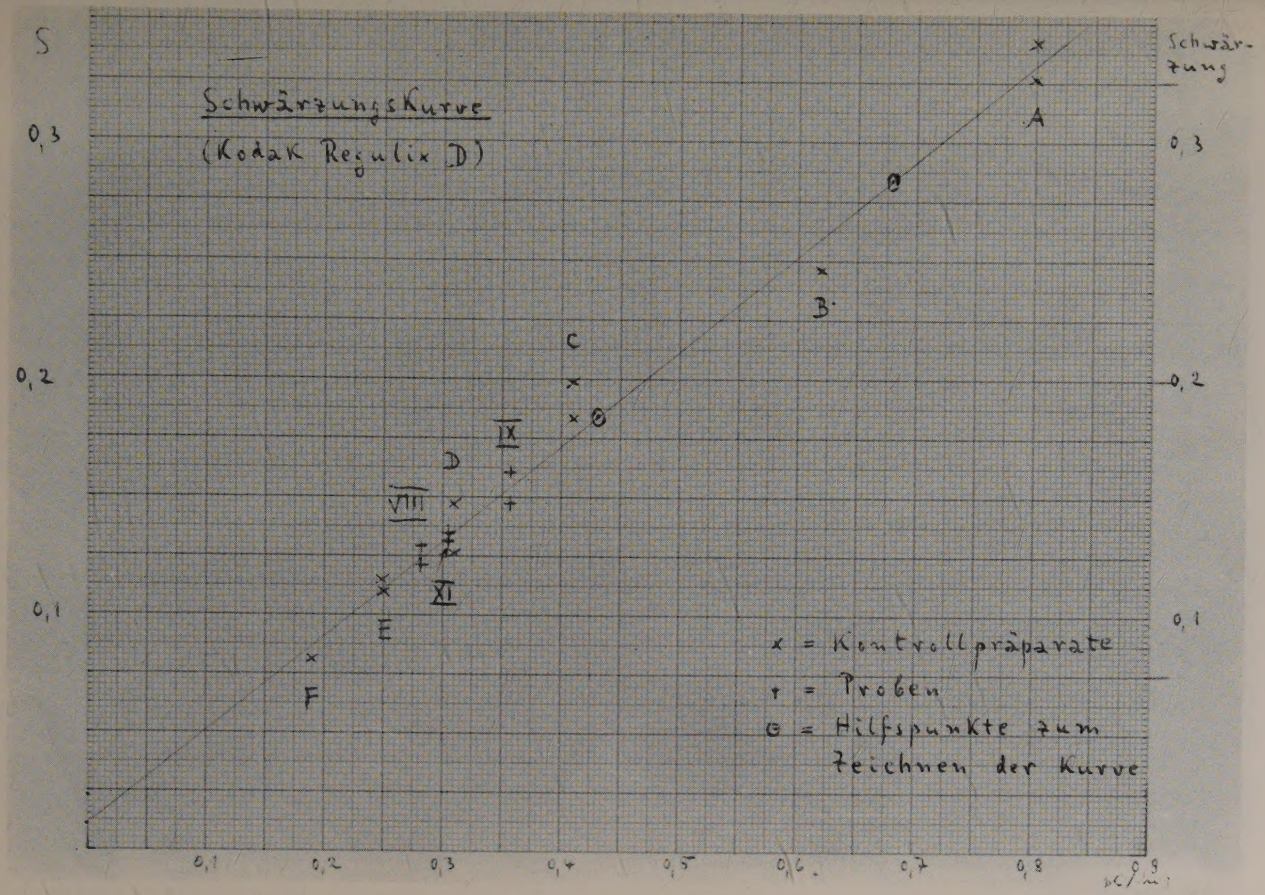

S
Schwärzungskurve
x = Kontrollpräparate
+ = Proben
⊙ = Hilfspunkte zum
Zeichnen der Kurve
0,3
0,2
pC/mm


Schwärzungskurve
(Agfa Dino F)
o - Hilfspunkte zum
zeichnen der Kurve


S
Schwärzungskurve
Kodak Regulix A
x = Kontrollpräparate
• = Proben
○ = Hilfspunkte zum Zeichnen der Kurve
A
D
VIII


Schwärzungskurve
(Kodak Regulix B)
A
B
C
D
E
F
IX
VII
XI
Kontrollpräparate
Proben
Hilfspunkte zum Zeichnen der Kurve


S
Schwärtungskurve
(Kodak Regulix C)
0,3
0,2
0,1
Schwärzung
0,3
0,2
0,1
A
B
C
D
E
F
IX
XI
VIII
× = Kontrollpräparate
+ = Proben
⊙ = Hilfspunkte zum Zeichnen der Kurve
0,1
0,2
0,3
0,4
0,5
0,6
0,7
0,8
0,9
µC/m²


S
Schwärzungskurve
(Kodak Regulix D)
Schwärzung
0,3
0,2
0,1
A
B
C
D
E
F
VIII
IX
XI
x = Kontrollpräparate
r = Proben
⊙ = Hilfspunkte zum Zeichnen der Kurve
0,1
0,2
0,3
0,4
0,5
0,6
0,7
0,8
0,9
mC/m²